

# ÉTUDE PHARMACOLOGIQUE DE L'EXTRAIT FLUIDE D'HYDRASTIS

## THÈSE

Présentée et publiquement soutenue  
devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le 10 Juin 1941

PAR

**Louis VIGNOLI**

Pharmacien, Docteur en Médecine

POUR OBTENIR LE DIPLOME SUPERIEUR DE PHARMACIEN

|                           |   |                          |   |                   |
|---------------------------|---|--------------------------|---|-------------------|
| Examineurs<br>de la Thèse | { | MM. les Professeurs :    | { |                   |
|                           |   | ASTRUC, <i>Président</i> |   |                   |
|                           |   | JUILLET                  |   |                   |
|                           |   | CANALS                   |   | <i>Assesseurs</i> |

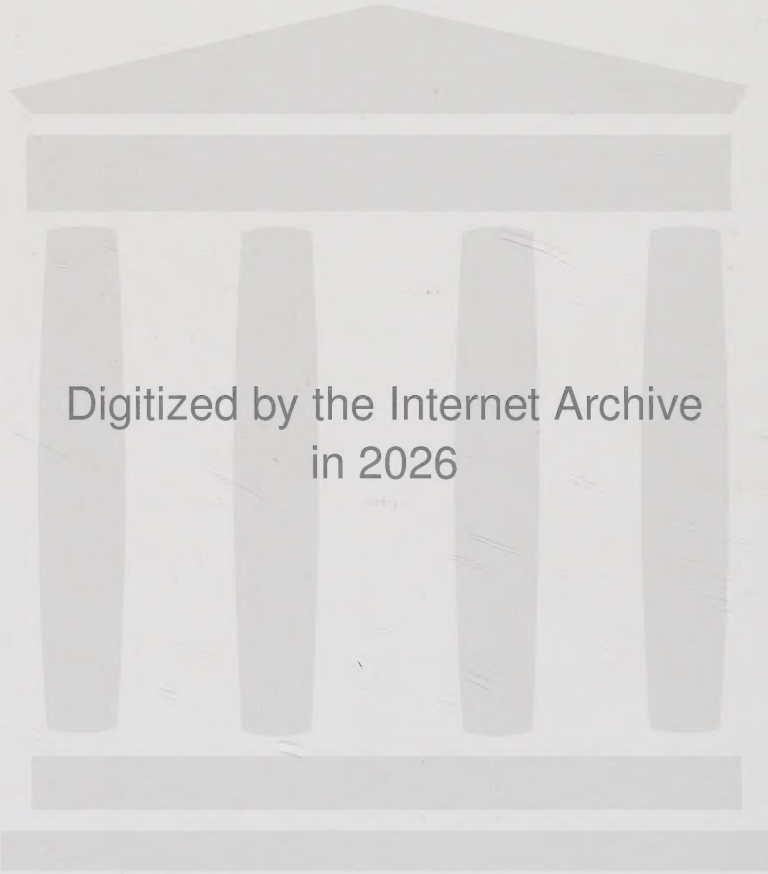
MARSEILLE

IMPRIMERIE DE LA SOCIÉTÉ DU « PETIT MARSEILLAIS »  
19<sup>e</sup>, Cours du Vieux-Port, 19<sup>e</sup>

1941



**ÉTUDE PHARMACOLOGIQUE**  
**DE**  
**L'EXTRAIT FLUIDE D'HYDRASTIS**



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

---

# ÉTUDE PHARMACOLOGIQUE

DE

## L'EXTRAIT FLUIDE D'HYDRASTIS

---

### THÈSE

Présentée et publiquement soutenue  
devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le

1941

PAR

**Louis VIGNOLI**

Pharmacien. Docteur en Médecine

POUR OBTENIR LE DIPLOME SUPERIEUR DE PHARMACIEN

---

|                           |   |                          |   |                   |
|---------------------------|---|--------------------------|---|-------------------|
| Examineurs<br>de la Thèse | { | MM. les Professeurs :    | { |                   |
|                           |   | ASTRUC, <i>Président</i> |   |                   |
|                           |   | JUILLET                  |   |                   |
|                           |   | CANALS                   |   | <i>Assesseurs</i> |

---

MARSEILLE

IMPRIMERIE DE LA SOCIÉTÉ DU « PETIT MARSEILLAIS »  
19<sup>e</sup>, Cours du Vieux-Port, 19<sup>e</sup>

---

1941

# Faculté de Pharmacie de Montpellier

## ADMINISTRATION

MM.

|                                             |            |
|---------------------------------------------|------------|
| A. ASTRUC (O. ✱, I. P. ☼)                   | Doyen      |
| A. FAUCON (O. ✱, I. P. ☼, ☼, C. ✚, G. O. ✚) | Assesseur  |
| LEBLAYE (I. P. ☼)                           | Secrétaire |

## PROFESSEURS

MM.

|                                             |                                     |
|---------------------------------------------|-------------------------------------|
| A. ASTRUC (O. ✱, I. P. ☼)                   | Pharmacie galénique et industrielle |
| C. HOLLANDE (I. P. ☼)                       | Zoologie et microbiologie           |
| A. JUILLET (I. P. ☼)                        | Botanique et matière médicale       |
| A. FAUCON (O. ✱, I. P. ☼, ☼, C. ✚, G. O. ✚) | Pharmacie chimique                  |
| E. CANALS (I. P. ☼)                         | Physique                            |
| M. MOUSSERON (A. ☼)                         | Chimie organique                    |
| P. JAULMES                                  | Analyse et Toxicologie              |
| R. DOLIQUE (A. ☼)                           | Chimie minérale                     |

## DOYEN HONORAIRE

M. G. MASSOL (✱, I. P. ☼)

## PROFESSEUR HONORAIRE

M. F. JADIN (O. ✱, I. P. ☼)

Doyen honoraire de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

## CHARGES DE COURS COMPLEMENTAIRES

MM.

|                                             |                               |
|---------------------------------------------|-------------------------------|
| A. ASTRUC (O. ✱, I. P. ☼)                   | Hydrologie                    |
| A. JUILLET (I. P. ☼)                        | Botanique                     |
| A. FAUCON (O. ✱, I. P. ☼, ☼, C. ✚, G. O. ✚) | Fonctions en chimie organique |
| M. MOUSSERON (A. ☼)                         | Chimie biologique             |
| J. JAULMES                                  | Toxicologie                   |
| J. GIROUX                                   | Zoologie                      |
| J. SUSPLUGAS                                | Cryptogamie                   |
| L. ASTRUC                                   | Législation pharmaceutique    |

## CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM.

|                    |                     |
|--------------------|---------------------|
| L. FARRÉ (I. P. ☼) | Chimie et Pharmacie |
| J. SUSPLUGAS       | Histoire naturelle  |
| P. CASTEL          | Chimie              |

NOTA. — La Faculté de Pharmacie n'accepte la responsabilité d'aucune des opinions émises par les candidats dans les Thèses ou Synthèses qui lui sont présentées.



A MES PARENTS

A MA FEMME

A MES ENFANTS

A MONSIEUR LE DOYEN ASTRUC

*Qui nous inspira le sujet de ce travail,  
nous guida de ses conseils et accepta  
de présider cette thèse.*

*Qu'il reçoive ici le témoignage de  
notre respectueuse gratitude.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR JUILLET

*Auquel je dois beaucoup. Affectueu-  
sement.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CANALS

*En témoignage de notre reconnais-  
sance.*

A MES AMIS

*Et en particulier à M. Benoît Vassallo,  
qui fut mon assistant pendant quatre  
ans, et, à ce titre, collabora à ce travail.  
Depuis, pharmacien à Ferryville (Tuni-  
sie), il montre que ses sentiments ne  
sont nullement altérés par le temps et  
la distance.*

*Qu'il en soit remercié.*

## INTRODUCTION

---

Lorsque M. le Professeur Astruc, de la Faculté de Pharmacie de Montpellier, nous proposa comme sujet de thèse l'étude pharmacologique de l'extrait fluide d'hydrastis, nous avons immédiatement entrepris ce sujet. Nous aurions pu terminer plus tôt. Mais il arrive un âge où le temps vole, les ennuis et les occupations se multiplient et un beau jour on constate que le retard ne peut se rattraper, mais qu'il convient cependant de faire abstraction de tout et de terminer la tâche.

Nous nous excusons donc préalablement auprès de M. le Doyen Astruc, qui fut notre maître et notre soutien moral dans bien des circonstances. Qu'il nous permette de dire, qu'actuellement, nos sentiments sont faits d'une amitié très respectueuse et d'une grande reconnaissance.

La Faculté de Pharmacie de Montpellier, pour moi d'ailleurs, est une « Alma Mater », et c'est déjà bien loin qu'il faut rechercher l'origine des sentiments de gratitude que j'ai pour elle.

Mon père, pharmacien de la Marine, soutint sa thèse de pharmacie à Montpellier, sur un sujet colonial, une plante au nom barbare, pratiquement inconnue alors, et il fut aidé dans sa tâche par son condisciple de collège Courchet, agrégé de la Faculté. C'est également M. le Professeur Courchet qui nous guida au cours de nos études de Pharmacie et nous amena à terminer celles-ci à Montpellier, où nous avons trouvé des Maîtres qui reportèrent sur nous l'attachement qu'ils avaient pour le leur.

M. le Professeur Juillet, successeur du Professeur Courchet dans la Chaire de Botanique, a remplacé auprès de nous le maître et l'ami disparu. Ce sont ses conseils, ses avertissements, son aide, son affectueuse amitié qui nous ont permis de parcourir une longue étape de la carrière. Il sait mes sentiments pour lui et les siens.

M. le Professeur Canals nous a guidé dans nos recherches ; son accueil à Montpellier et dans son laboratoire a été si franchement amical, que j'en conserve le souvenir et le remercie encore. Je n'ai pas oublié les jours de travail sous l'égide de son collabo-

rateur M. Peyrot qui, dans la nuit des salles, m'initiait à manipuler ces mystérieux et fragiles appareils.

Ce travail, nous l'avons réalisé à Marseille, dans le Laboratoire de Pharmacie. Mais quand je m'exprime ainsi, cela veut dire que la pénurie de ce Laboratoire était telle, qu'allant de porte en porte, j'ai demandé asile.

Successivement, M. le Professeur Chevallier m'a ouvert son laboratoire, exposé ses méthodes, confié ses appareils.

M. le Professeur Rimattei nous a permis de réaliser chez lui nos mesures de conductivité.

Qu'ils veuillent bien m'excuser et croire en mes remerciements.

Enfin, M. le Professeur Mercier a bien voulu nous initier à l'expérimentation pharmaco-dynamique. C'est dans son laboratoire que les essais biologiques ont été effectués, nous ne saurions trop lui renouveler ici l'expression de notre gratitude.

Ce travail comprend évidemment plusieurs chapitres. Tout d'abord : la matière première sur laquelle vont être effectués nos essais ; son origine ou son obtention.

Puis les essais : physiques, chimiques, biologiques.

Parmi les essais physiques nous classerons la détermination du poids spécifique.

- Les indices d'eau, diaphanométrie et de précipitation ;
- La tension superficielle ;
- La viscosité ;
- La fluorescence en lumière de Wood ;
- L'indice de réfraction ;
- La conductivité ;
- Une méthode originale de dosage de l'hydrastine et de la berbérine.

Les essais chimiques portent sur :

- La constitution de l'extrait fluide ;
- La détermination de l'extrait sec à 100° ;
- L'étude des cendres ;
- La détermination du degré alcoolique, des indices d'oxydabilité ;
- L'acidité ;
- L'influence de pH et la préparation d'extraits en milieux tamponnés à pH constant ;

Une étude critique de divers modes de dosage de l'hydrastine et le dosage de la berbérine.

L'essai biologique nous permettant de vérifier l'activité de cette préparation et d'effectuer son titrage pharmaco-dynamique.

Pour chacun de ces chapitres, nous décrivons le procédé utilisé ou proposé.

Nous donnons une vue d'ensemble comparative entre les pharmacopées : française, allemande, belge, américaine, espagnole, hollandaise, italienne, japonaise, mexicaine, russe, suédoise, suisse.

Nous énonçons également les résultats obtenus par divers expérimentateurs.

Enfin, nous terminerons par les réflexions que nous suggère cet essai.

Il est évident, qu'étant donnée la diversité des chapitres, si nous avons voulu pour chacun d'eux noter la bibliographie com-

plète, cela aurait dépassé le cadre de notre travail. Aussi ne donnerons-nous en référence que les publications se rapportant spécifiquement à notre sujet et les ouvrages réellement consultés et indispensables.

Les chapitres sembleront, peut-être, n'avoir aucun lien entre eux. La cohésion, nous la trouverons dans la conclusion générale.

---

# ETUDE DE LA COMPOSITION D'UN EXTRAIT FLUIDE

(Codex 1937)

---

Avant d'entreprendre l'étude de divers essais physiques, chimiques ou pharmaco-dynamique de l'extrait fluide d'hydrastis, nous avons jugé indispensable de connaître la composition chimique type de cet extrait fluide. Cette étude, par la suite, nous est apparue capitale, car elle nous a permis l'explication de diverses réactions ou de divers phénomènes observés en cours d'expérimentation.

Si nous nous reportons à ce que disent les auteurs sur la composition chimique du rhizome d'hydratis, nous apprenons que :

Cette plante, originaire d'Amérique, est utilisée par les Indiens comme teinture jaune, comme antiseptique dans le pansement des plaies ulcérées, et en particulier des lésions oculaires et buccales.

De plus, ils l'utilisent comme tonique amer et dans le traitement des affections du foie. Cette plante a été inscrite dès 1860 au Codex U. S. A.

Une étude très documentée a été faite en 1906, par Goris et Wallart (1) et on peut relever que le rhizome d'hydratis contient :

De l'amidon, une résine amère et une essence aromatique. Puis des alcaloïdes : la berbérine (Durand) (2) 4 p. cent ; l'hydrastine (Perrin, 1852) (3) 1,50 p. cent.

Il existait un troisième alcaloïde : la canadine (Hale, 1893, et Schmidt, 1894) (4).

Richard Schreiber, en 1912, (5), signale que le rhizome d'hydrastis contiendrait bien trois alcaloïdes :

|                  |                    |
|------------------|--------------------|
| Hydrastine ..... | 2 à 4 p. cent      |
| Berbérine .....  | 3 à 5 p. cent      |
| Canadine .....   | à l'état de traces |

et, en plus, de la méconine (Freund, 1889) (6), et de la phytostérine (Schmidt, 1890) (7).

Belloni, en 1919 (8), étudiant la drogue utilisée en pharmacie, nous signale qu'elle est en réalité constituée par un mélange de rhizome vrai environ 50 p. cent, de racine 25 p. cent, de feuilles 5 p. cent. Ce mélange fournit, en moyenne, de 6 à 8 p. cent de cendres et contient de 10 à 14 p. cent d'humidité.

Si les proportions de ces éléments rhizome et racine varient, on assiste alors à des variations importantes dans la composition chimique du mélange.

Si la teneur en berbérine (2,25 à 3,35 p. cent) varie peu du rhizome à la racine, il n'en est pas de même pour l'hydrastine, qui se trouve exister en plus grande quantité dans le rhizome, 3,55 à 3,93 p. cent, que dans la racine, 2,30 à 2,96 p. cent.

En revanche, ce sont les racines qui sont les plus minéralisées :

Cendres : 7,30 à 10,50 p. cent dans la racine ;

» 3,80 à 6 p. cent dans le rhizome.

Markwell (9) démontre que la culture a une influence considérable sur la teneur en hydrastine. Celle-ci diminue et, de 1927 à 1936, elle passe de 3 gr. à 1,75 p. cent.

Deux remarques sont intéressantes :

L'hydrastine, d'après Dohme et Engelhardt (10), existe dans la drogue, d'une part, à l'état libre, 18,50 p. cent et surtout à l'état de sels solubles dans l'eau.

Une partie de l'hydrastine contenue dans les liquides alcooliques extractifs disparaît des liqueurs extractives (Smeets) (11).

Les ouvrages de Matière Médicale consultés indiquent : Hérail (12) : berbérine, 4 p. cent ; hydrastine, 1,50 p. cent ; canadine, une résine, une huile essentielle et de l'amidon en abondance.

Planchon (13) : berbérine, 1,70 p. cent ; hydrastine, 1,50 p. cent ; canadine, une résine, de l'amidon et des traces d'essence, 5 à 8 p. cent de cendres riches en alumine.

Tchirsch (14) donne comme constitution chimique : la berbérine, dont la teneur varierait de 0,34 p. cent (Leslie-Sonle), jusqu'à 5 p. cent dans des cas exceptionnels (Kremel). L'hydrastine se rencontrerait à des doses variant de 0,25 (Linde) à 4,16 p. cent (Schreiber) et se trouverait en partie à l'état libre combinée aux acides organiques. La canadine (Schmidt) de la méconine (Freund), de la phytostérine (Schmidt) et une huile essentielle.

### **Pour les extraits fluides préparés**

Les Pharmacopées ne signalent que le principe actif hydrastine et les caractères analytiques et les réactions colorées dues à la présence de berbérine.

1° 1 cm<sup>3</sup> d'extrait fluide est traité par 4 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique

dilué : après 15 minutes, il doit apparaître des cristaux jaunes de sulfate de berbérine.

2° 1 cm<sup>3</sup> dilué dans 20 cm<sup>3</sup> d'eau. Une partie de cette liqueur filtrée est traitée par l'acide chlorhydrique et l'eau de chlore ou quelques cristaux de chloramine T : il doit se produire une coloration rouge.

Les auteurs ayant signalé la composition de la poudre d'hydrastis servant à la préparation de l'extrait fluide, n'étudient celui-ci que pour sa teneur en hydrastine et quelquefois en berbérine.

Nous avons étudié la composition de l'extrait fluide immatriculé par nous sous la rubrique « S<sup>3</sup> », qui donne un résidu à 100° égal à 16 gr., 40 p. cent.

#### 1° ALCALOÏDES TOTAUX.

Nous avons prélevé 250 g. de cet extrait et les avons placés dans une ampoule à décantation de 1.000 cm<sup>3</sup> bouchée émeri. Pour libérer les alcaloïdes, nous avons alcalinisé fortement par 15 cm<sup>3</sup> de lessive de soude pure. L'hydrastine est libérée et la berbérine également, mais celle-ci passe à l'état de berbérinal (Lebeau et Courtois) (15), composé basique à fonction aldéhyde. Le berbérinal est isomère de la berbérine. Il est soluble dans l'éther.

Nous ajoutons ensuite dans l'ampoule 500 cm<sup>3</sup> d'éther et nous agitions longtemps sans émulsionner. L'éther se colore très fortement en jaune brun.

Après un repos d'une heure, nous décantons le liquide inférieur (extrait alcalin) dans une deuxième ampoule à décantation de 1.000 cm<sup>3</sup>.

L'éther est filtré sur un tampon de coton hydrophile. Il est recueilli dans un ballon d'un litre pouvant s'adapter à un appareil distillatoire. Il est distillé. Pour éviter les accidents, nous avons adopté le chauffage électrique du B.M. et nous opérons loin de toute flamme.

L'extrait contenu dans la deuxième ampoule à décantation est agité à nouveau avec 500 cm<sup>3</sup> d'éther en prenant les mêmes précautions que précédemment pour éviter l'émulsion du mélange. L'agitation doit être longue et non brutale.

L'éther est recueilli après repos, filtré et distillé dans le même ballon que précédemment.

L'opération est recommencée autant de fois qu'il est nécessaire pour enlever à l'extrait fluide ses alcaloïdes. On arrête le traitement lorsque l'éther, après une agitation prolongée, se sépare absolument incolore.

Il nous a fallu quinze opérations successives pour arriver au résultat indiqué. L'extrait alcalin a donc subi l'action extractive de 7.000 cm<sup>3</sup> d'éther.

La dernière portion d'éther n'est pas évaporée dans le ballon à distiller de 1.000 cm<sup>3</sup>. Nous l'avons utilisée en partie pour dissoudre le résidu contenu dans ce ballon. La solution obtenue est alors évaporée au B. M. à 30° dans une fiole d'Erlenmeyer de 125 cm<sup>3</sup> préalablement tarée. Le restant de l'éther employé en fractions a servi à rincer soigneusement le ballon de distillation et chacune de ces fractions a été à son tour évaporée dans la fiole tarée.

Cette fiole a été ensuite portée à l'étuve à eau à 98°-100° jusqu'à poids constant.

Nous avons obtenu un poids d'alcaloïdes de 11 g. 055, ce qui correspond à 4 g. 422 p. cent d'alcaloïdes totaux.

Simultanément, nous pratiquons sur le même extrait « S<sup>3</sup> » un dosage de l'hydrastine, ainsi que nous l'indiquerons au paragraphe des dosages chimiques de cet alcaloïde.

Le résultat trouvé nous donne 1 g. 92 p. cent d'hydrastine

Le berbérinal, dans notre extraction totale, représente donc par différence 2 g. 502 p. cent.

## 2° ACIDES RÉSINIQUES.

L'extrait alcalin privé d'alcaloïdes par l'éther (liqueur n° 2), est transversé dans un Becher d'un litre en verre Pyrex.

Pour chasser l'éther dissous, nous plaçons ensuite ce vase sur un B. M. bouillant jusqu'à ce que l'odeur de l'éther ait disparu.

Après refroidissement, nous acidifions par de l'acide acétique ajouté peu à peu jusqu'à virage franc d'un papier réactif au tournesol.

Il se forme un précipité gélatineux, noirâtre, excessivement abondant.

Nous laissons décanter, puis nous versons sur un filtre sans plis, préalablement desséché et taré, d'abord la liqueur surnageante, puis le précipité.

Nous lavons plusieurs fois le Becher avec de l'eau acidulée par l'acide acétique (acide acétique 1 cm<sup>3</sup>, eau distillée 1.000 cm<sup>3</sup>) en ayant soin de détacher des parois avec un agitateur muni d'un morceau de tube de caoutchouc, le précipité qui pourrait y adhérer. Ces eaux de lavage sont successivement passées sur le filtre.

Le précipité est enfin lavé à l'eau acétique jusqu'à ce que le filtrat s'écoule incolore.

Toutes les liqueurs filtrées sont réunies dans un même Becher de 2.000 cm<sup>3</sup> (liqueur n° 3).

Le filtre est desséché à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant.

Acides résiniques : 3 g. 26, soit 1 g. 304 p. cent.

### 3° TANINS.

La liqueur acétique n° 3 précédente est traitée par un lait de chaux (environ 100 cm<sup>3</sup> d'un lait contenant 10 g. de chaux de marbre) ajouté peu à peu en agitant continuellement à l'aide d'un agitateur.

La liqueur, neutralisée d'abord, prend ensuite une réaction alcaline et les tanins sont précipités par la chaux.

On laisse en repos pendant 24 heures, puis on décante la liqueur surnageante sur un filtre sans plis ; le précipité est jeté à son tour sur le filtre. On lave le Becher à l'eau de chaux, les eaux de lavage sont versées sur le filtre.

Le précipité est ainsi lavé jusqu'à ce que la liqueur passe incolore, toutes les liqueurs de lavage sont réunies, concentrées au B. M. et ensuite ajoutées au premier retrait de façon à ce que le volume total ne soit pas supérieur à 1 litre. Du carbonate de chaux se précipite pendant cette opération, on peut ne pas en tenir compte et le conserver dans la liqueur (liqueur n° 4).

Le précipité de chaux lavé est traité ainsi. Le filtre est crevé et on fait passer le précipité dans un Becher de 1.000 cm<sup>3</sup> avec de l'alcool à 70°. Le filtre est soigneusement lavé avec un jet de cet alcool afin de détacher la totalité du précipité, on utilise ainsi environ 500 cm<sup>3</sup> d'alcool.

Le mélange est traité en ajoutant goutte à goutte de l'acide sulfurique dilué au quart, et en agitant énergiquement jusqu'à ce que la réaction devienne légèrement acide. Il faut avoir soin d'opérer en plaçant le Becher dans un récipient volumineux contenant de l'eau froide afin d'éviter un échauffement trop violent dû à la neutralisation de l'acide.

Il se forme du sulfate de chaux, insoluble dans l'alcool à 70° qui se précipite. Le tanin, lui, passe en solution.

Laisser décanter, puis filtrer la liqueur alcoolique et laver le précipité de sulfate de chaux avec de l'alcool à 70°.

Les filtrats sont réunis, portés à un volume connu et sur une partie aliquote de cette liqueur on dose le tanin par la méthode à la peau (Deniges) (16).

En opérant ainsi, nous avons obtenu 2 g. 24 p. cent de tanin.

L'étude sommaire de ce tanin nous a fourni les renseignements suivants (Wattiez et Sternon) (17) :

La solution aqueuse neutre traitée par le perchlorure de fer (R) nous donne un précipité noir.

Cette même solution traitée : d'une part par l'eau de brome, ne donne pas de précipité. On en traite d'autre part 50 cm<sup>3</sup> par 10 cm<sup>3</sup> d'aldéhyde formique et 5 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique au B. M. bouillant pendant trente minutes. Puis abandonné au refroidissement, le liquide ne donne pas de précipité.

La solution ne réduit pas directement la liqueur de Fehling, mais après avoir été additionnée de Cl H dans la proportion de 1 p. cent de son volume et portée ensuite au B. M. bouillant pendant 30 minutes, la solution, préalablement neutralisée, réduit la liqueur de Fehling. On ne constate pas la formation de précipité rouge de phlobaphène.

Nous sommes donc en présence d'un tanin pyrogallique.

La liqueur n° 4, provenant du traitement par le lait de chaux, possède une réaction alcaline due à la chaux solubilisée, nous la neutraliserons par l'acide acétique en présence d'un papier de tournesol, puis nous acidifions très légèrement.

Nous ajoutons, en agitant énergiquement, 50 g. de noir diamant, puis nous portons au B. M. et élevons progressivement la température jusqu'à 50° environ, en agitant continuellement.

Après une heure de contact, la liqueur est jetée sur un filtre sans plis. Le noir est retenu très facilement et le liquide de filtration s'écoule incolore. Nous le recueillons (liqueur n° 5).

Le noir est lavé à l'eau acétique (à 1 p. 1.000), puis à l'eau distillée jusqu'à réaction neutre au tournesol de l'eau de lavage.

Ces eaux de lavage sont recueillies, concentrées au B. M., puis le résidu de l'évaporation est mélangé au liquide de filtration et on porte à un volume exactement déterminé (1.000 cm<sup>3</sup>).

Dans cette liqueur n° 5, nous allons retrouver glucides et divers composés solubles non adsorbables par le noir diamant (Wattiez et Sternon).

Sur le noir diamant lavé à l'eau, on pourra retrouver glucoside et saponine acide.

#### 4° ISOLEMENT DES GLUCOSIDES ET SAPONINES.

Le filtre contenant le noir diamant est percé et le noir est entraîné dans un ballon de 1 litre à l'aide de 500 cm<sup>3</sup> d'alcool à 70° additionné de 1 g. de carbonate de chaux.

On fait bouillir au réfrigérant à reflux pendant une demi-heure. On laisse refroidir, puis on décante cet alcool qui se trouve être fortement coloré en jaune.

On épuise ainsi le noir par une série de traitements semblables en employant chaque fois 500 cm<sup>3</sup> d'alcool à 70°. L'épuisement est terminé quand l'alcool décanté est incolore. Il nous a fallu six épuisements, soit 3 litres d'alcool.

Les solutions alcooliques sont concentrées par distillation au B. M. sous le vide, afin de réduire la durée de l'opération. Nous arrêtons l'opération quand le résidu contenu dans le ballon n'est plus que de quelques centimètres cubes (50 cm<sup>3</sup> environ), nous décantons alors dans un Becher de 250 cm<sup>3</sup>, nous rinçons le ballon avec de l'alcool à 70° chaud et mélangeons ces liqueurs de lavage au contenu du Becher.

Nous évaporons l'alcool au B. M. Le résidu sec est pris par 30 cm<sup>3</sup> d'acétone bouillant, il se dissout entièrement. Nous pouvons donc conclure à l'absence de saponine.

L'acétone est évaporée au B. M. Le résidu est repris par 20 cm<sup>3</sup> d'eau froide. Il n'est pratiquement pas soluble à froid. Mais après tiédissement au B. M., la solubilisation est parfaite. La liqueur est colorée en jaune verdâtre.

1° Elle ne réduit pas directement la liqueur de Fehling.

2° Dans 1 cm<sup>3</sup> de cette liqueur, nous ajoutons 2 gouttes d'acide chlorhydrique et nous portons ensuite 20 minutes au B. M. bouillant. Nous neutralisons ensuite par 3 à 4 gouttes de lessive de soude, il se produit un trouble. Après centrifugation, la liqueur limpide surnageante est traitée par la liqueur de Fehling. Nous constatons alors une réduction caractéristique de l'oxyde cuivrique.

3° Nous avons voulu nous assurer que nous n'avions pas de saccharose dans la solution aqueuse. Pour cela, nous avons prélevé

5 cm<sup>3</sup> de cette liqueur et nous avons traité au B. M. à 60° par 2 g. de noir diamant en présence de quelques gouttes d'acide acétique dilué de manière à nous placer en milieu très légèrement acide, comme précédemment.

Après une heure de contact, nous avons filtré sur un petit filtre sans plis.

*Le filtrat absolument incolore.*

1° Ne réduit pas la liqueur de Fehling.

2° Après hydrolyse chlorhydrique : ne réduit pas la liqueur de Fehling.

Nous pouvons donc conclure à l'absence de saccharose dans la solution aqueuse initiale.

Cependant, pour être certain de ne pas nous trouver en présence de tanin ayant échappé à la précipitation par la chaux, nous avons voulu purifier à nouveau le composé hydrolysable isolé. 10 cm<sup>3</sup> de la solution aqueuse sont placés dans une capsule en porcelaine de 100 cm<sup>3</sup> et traités par la solution de Courtonne (sous-acétate de plomb neutre) ajoutée goutte à goutte jusqu'à ce qu'il ne se forme plus de précipité.

Nous avons ensuite ajouté, goutte à goutte également, une solution saturée de sulfate de soude pour précipiter l'excès de plomb.

Dans la capsule, nous ajoutons ensuite du carbonate de chaux pur précipité, en agitant à l'aide d'une spatule jusqu'à obtention d'une pâte solide se fragmentant par l'agitation.

Cette pâte a été ensuite desséchée dans une étuve électrique réglée à 37°.

Après 24 heures, la dessiccation étant parfaite, la masse a été détachée de la capsule à l'aide de la spatule. Puis elle a été broyée au mortier, et la poudre obtenue a été versée dans un ballon en verre Pyrex de 1 litre de capacité.

Dans ce ballon, nous avons ajouté 500 cm<sup>3</sup> d'éther acétique. Puis nous avons adapté un réfrigérant ascendant et nous avons laissé digérer au B. M. bouillant pendant une heure.

Après refroidissement, l'éther acétique a été décanté. La poudre a subi un deuxième épuisement par l'éther acétique, puis un troisième conduit exactement de façon semblable à celle que nous venons de décrire.

La totalité de l'éther acétique, après filtration, est distillée au B. M.

Lorsque nous ne possédons plus dans le ballon de l'appareil distillatoire que quelques centimètres cubes de liqueur d'éther acétique, nous décantons celle-ci dans un tout petit cristalliseur cylindrique. Nous rinçons le ballon à l'aide d'éther acétique et ces produits de rinçage sont réunis à la précédente liqueur acétique.

L'évaporation du solvant s'effectue au B. M., à une température inférieure à 40°. Les toutes dernières portions d'éther sont livrées à l'évaporation spontanée à la température du laboratoire.

Nous constatons alors dans le cristalliseur la présence d'un résidu jaune vert qui contient des cristaux en aiguilles.

Ce résidu est très peu soluble dans l'eau froide, mais il se dissout à chaud.

La liqueur ne réduit pas la liqueur de Fehling.

Mais après hydrolyse chlorhydrique et alcalinisation, nous constatons une réduction très franche de la liqueur de Fehling.

Nous avons alors dosé le sucre obtenu par hydrolyse : Pour cela, une prise de 0 g. 0337 du composé isolé par l'éther acétique a été solubilisée dans 10 cm<sup>3</sup> d'eau distillée chaude et la solution versée dans un tube en verre Pyrex bouchant émeri.

Nous avons ajouté V gouttes d'acide chlorhydrique et nous avons placé le tube au B. M. bouillant pendant 20 minutes. Cette liqueur acide a été lavée trois fois par agitation avec 10 cm<sup>3</sup> d'éther et décantation. Les dernières traces d'éther ont été chassées au B. M. Nous avons ensuite neutralisé par X gouttes de lessive de soude et nous avons ajouté 20 cm<sup>3</sup> de solution de Fehling.

Un tube témoin contenant 10 cm<sup>3</sup> de solution titrée de glucose à 1 p. 1.000 est également additionné de 20 cm<sup>3</sup> de liqueur de Fehling.

Les deux tubes ont été placés au B. M. bouillant pendant 20 minutes. Nous avons constaté la formation d'un dépôt d'oxydure rouge de cuivre dans chacun d'eux.

*Pour faire le titrage par la méthode de Bertrand (18).* — Nous avons recueilli chacun de ces oxydures formés sur un filtre poreux en verre d'Iéna n° 3. G. 3.

Chaque oxydure a été lavée à l'eau distillée bouillie et ce précipité a été dosé dans 10 cm<sup>3</sup> de sulfate ferrique sulfurique (formule Bertrand), versés peu à peu sur le filtre. La dissolution effectuée, celui-ci a été lavé à l'eau distillée bouillie.

Toutes ces liqueurs de filtration ont été recueillies et nous

avons titré le sulfate ferreux formé par une solution de permanganate de potasse N/50.

Soit  $n$  cm<sup>3</sup> de permanganate N/50 versés pour 10 cm<sup>3</sup> de la solution type de glucose, soit 10 mg de glucose.

Soit  $n'$  cm<sup>3</sup> de permanganate N/50 versés pour la solution de sucre réducteur à titrer.

Nous avons en relation :

$$X = \frac{10 \times n'}{n}$$

qui nous donne, en milligrammes, la quantité de sucre réducteur contenue dans la prise d'essai.

Par ce procédé, nous avons trouvé que les 0 g. 0337 du composé hydrolysé nous donnent 0 g. 0072 de sucre réducteur exprimé en glucose, soit 21 g. 36 p. cent.

*Etude des produits d'hydrolyse.* — Si nous hydrolysons en procédant toujours de la même façon ce qui nous reste du produit de purification par l'éther acétique, nous obtenons une liqueur vert brunâtre possédant l'odeur caractéristique du rhizome d'*hydrastis*.

Cette liqueur acide est épuisée à plusieurs reprises dans une ampoule à décantation par l'éther.

Les colutions éthérées sont évaporées spontanément dans une capsule de porcelaine.

Nous constatons que, à mesure que l'évaporation se poursuit, le résidu prend une coloration brune de plus en plus intense.

L'évaporation terminée, nous obtenons un produit brun, fonçant très rapidement en couleur et possédant une odeur forte, âcre caractéristique rappelant l'odeur du rhizome d'*hydrastis*.

Cette substance est soluble dans l'eau :

La solution aqueuse est légèrement acide au papier de tournesol.

Elle réduit fortement la liqueur cupro-alcaline de Fehling.

Une parcelle du produit solide provenant de l'évaporation de l'éther traitée dans un tube à essai par quelques centimètres cubes de réactif sulfo-tungstique donne une coloration brun violet (E. Defacqz) (19), (Wurtz) (20).

La quantité de produit isolé ne nous a pas permis de poursuivre plus loin nos recherches. Mais il nous paraît possible d'indi-

quer que le composé d'hydrolyse ainsi isolé semble devoir être ou contenir de l'hydroquinone.

La solution aqueuse acide provenant de l'hydrolyse après épuisement par l'éther présente une coloration jaune vert intense ; cette solution est portée pendant quelques minutes au B. M. pour évaporer l'éther dissous.

Puis après refroidissement, nous en versons une partie dans une ampoule à décantation et nous l'agitons avec du chloroforme, celui-ci se colore en jaune verdâtre.

Une autre portion est agitée dans les mêmes conditions avec du benzène et une dernière avec de l'alcool amylique : ces solvants organiques se séparent en entraînant de la matière colorante. La liqueur contient donc une matière colorante en partie soluble dans les solvants organiques : chloroforme, benzène et alcool amylique, et insoluble dans l'éther.

Cette solution contient également le glucide du glucoside.

*Caractérisation du glucide.* — Nous avons effectué sur cette liqueur, préalablement décolorée au noir diamant, les réactions suivantes :

1° Réaction de Bertrand (orcine chlorhydrique) : on obtient une coloration rouge. Ceci nous permet d'affirmer l'absence de pentose.

Nous sommes donc en présence d'une hexose ou de méthylpentose.

2° Formation de l'osazone : 10 cm<sup>3</sup> de liqueur décolorée, préalablement neutralisée, sont traités par X gouttes de phényl-hydrazine et X gouttes d'acide acétique cristallisable.

Nous portons le tout au B. M. pendant une demi-heure à 100° et nous ajoutons, après ce temps, 10 cm<sup>3</sup> d'eau distillée bouillante.

Nous laissons refroidir. Les cristaux formés sont recueillis sur un filtre mouillé et lavés à l'eau acétique.

Ces cristaux, examinés au microscope entre lame et lamelle, sont formés de longue aiguilles groupées en pinceaux ou branches de genêts.

Ces cristaux sont insolubles dans l'eau froide, dans l'éther, la benzine, mais sont solubles dans l'alcool à 95°. Leur point de fusion au bloc Maquenne a été de 202° (purification insuffisante).

Le glucose fournit les mêmes réactions, le point de fusion de l'osazone est de 205°.

*Réaction de Selivanoff.* — Le réactif de Selivanoff est préparé en dissolvant 2 g. de résorcine pure dans 100 cm<sup>3</sup> d'eau distillée en présence de 1/2 cm<sup>3</sup> de H<sup>2</sup> SO<sup>4</sup> concentré.

On l'utilise en plaçant dans un tube à essais : solution sucrée 2 cm<sup>3</sup>, puis 2 cm<sup>3</sup> de réactif et enfin 2 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique concentré, on porte ensuite au B. M. bouillant.

Si le sucre en solution était du fructose (cétose), nous devrions obtenir une coloration rouge et même un précipité rouge.

La coloration obtenue est jaune pâle, ce qui montre que le sucre est une aldose.

4° Une partie de solution décolorée est neutralisée, puis additionnée de levure de bière fraîche et abandonnée pendant 48 heures à la température du laboratoire.

Nous avons ensuite délégué au sous-acétate de plomb. La liqueur de filtration ne réduit plus la solution cupro-alcaline de Fehling.

Nous sommes donc en présence d'un sucre fermentescible.

De toutes les réactions précédentes, nous pouvons conclure que le sucre provenant de l'hydrolyse du composé extrait par l'éther acétique est bien du glucose.

Nous pouvons également conclure à la présence dans l'extrait fluide d'hydrastis d'une *glucoside* qui, par hydrolyse, nous donne du glucose, une matière colorante et un composé qui paraît être de l'hydroquinone.

#### 5° SUBSTANCES RÉDUCTRICES.

*Etude de la liqueur n° 5.* — Cette liqueur, avons-nous dit, contient les glucides et divers composés solubles non adsorbables par le noir.

Une partie de cette liqueur a été neutralisée et traitée à froid par la liqueur cupro-alcaline. Nous avons constaté, après une heure de contact, une réduction très nette de ce réactif.

Nous avons alors pratiqué les dosages suivants :

1° Dosage de la substance réductrice à froid.

2° Dosage de la totalité des substances réductrices à chaud.

3° Interversion de la liqueur et dosage de la totalité des substances réductrices à chaud.

Le dosage proprement dit a été effectué selon la technique de Bertrand, que nous avons précédemment décrite.

L'intervention a été pratiquée en tube bouché à l'émeri en présence d'acide chlorhydrique dans la proportion de 1 p. 1000.

La précipitation de l'oxydule à froid a été effectuée en tube bouchant à l'émeri, la durée de contact a été de vingt-quatre heures.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

1° Substances réductrices à froid exprimées en glucose, 0 g. 92 p. cent.

2° Totalité des substances réductrices à chaud en glucose, 3 g. 15 p. cent.

3° Totalité des substances réductrices à chaud après hydrolyse exprimées en glucose, 3 g. 15 p. cent.

Nous pouvons donc conclure que notre extrait contient en glucose, 0 g. 92 de substance réductrice à froid.

3. 15—0,92 = 2 g. 23 de substance réductrice à chaud.

= absence de saccharose.

*Substance réductrice à froid.* — La liqueur traitée à chaud par du bisulfite de soude donne un précipité micro-cristallin.

Nous avons recueilli ce précipité et, après l'avoir lavé à l'eau distillée, nous l'avons desséché à basse température et pesé, soit 0 g. 70 (0 gr. 266 p. cent d'extrait). Nous l'avons versé dans un tube à essais muni d'un bouchon traversé par un tube à dégagement en verre recourbé de manière à pouvoir faire passer les vapeurs dégagées par la réaction dans un réactif de Schiff (fuchsine bisulfitée). Le précipité a été traité par de la lessive de soude et nous avons chauffé au B. M.

La combinaison bisulfitique se dissocie et les vapeurs dégagées viennent recolorer en rose (coloration visible, mais très faible) le réactif de Schiff. Nous sommes donc en présence d'une substance aldéhydique.

*Substance réductrice à chaud.* — Cette substance réductrice à chaud est du glucose que nous avons caractérisé par la série des réactions que nous avons déjà énumérées et décrites dans les feuillets précédents, au moment où nous voulions caractériser le glucide provenant de l'hydrolyse du glucoside.

#### 6° BASES AMINÉES.

La liqueur n° 5 contient, en outre, une base aminée : la méconine (Freund) (20). Pour isoler cette dernière et la doser, nous avons utilisé le processus suivant :

50 g. de l'extrait fluide  $S^3$  ont été décolorés par 10 g. de noir diamant en présence d'une trace d'acide acétique (V gouttes). Nous avons effectué cette opération au B. M. à  $50^\circ$ . Le mélange a été agité continuellement jusqu'à évaporation presque totale de l'alcool. Ce qui correspond à l'évaporation des trois quarts du volume environ.

Il est indispensable de chasser l'alcool si l'on veut avoir une bonne décoloration.

Le résidu a été repris par de l'eau distillée chaude, jeté sur un filtre sans plis et lavé à l'eau distillée jusqu'à obtention de  $100\text{ cm}^3$ .

Ce filtrat est ensuite délégué au sous-acétate de plomb. Pour cela, nous avons ajouté  $10\text{ cm}^3$  de liqueur de Courtonne, puis  $10\text{ cm}^3$  de solution saturée de sulfate de soude pour éliminer le plomb en excès.

Nous avons donc un volume de  $120\text{ cm}^3$ . Nous filtrons et recueillons  $60\text{ cm}^3$  de liqueur qui correspondent à 25 g. d'extrait fluide.

Le filtrat est concentré au B. M. jusqu'à consistance de sirop. On ajoute alors trois volumes d'alcool à  $95^\circ$ . Un précipité se forme entraînant le sulfate de plomb qui avait pu rester en solution.

On filtre et on lave le précipité et le filtre à l'alcool à  $95^\circ$ . On évapore à consistance sirupeuse et on reprend à nouveau par trois volumes d'alcool absolu. Après filtration, lavage, nouvelle évaporation de la liqueur alcoolique et reprise par l'alcool absolu.

La méconine est soluble, alors que les sels minéraux sont éliminés.

Nous avons utilisé le procédé de Claude et Blanchetière (21), qui dose la choline par précipitation à l'état de chloroplatinate.

La solution de l'amine dans l'alcool absolu est précipitée à froid par un excès de chlorure de platine en solution à 1 p. cent dans l'alcool absolu.

On laisse en repos 24 heures, puis on recueille le précipité sur un filtre en verre d'Iéna 3. G. 3 préalablement taré. On le lave à l'alcool absolu jusqu'à ce que la liqueur ne précipite plus par addition de chlorure de potassium.

On sèche et on pèse.

100 g. de chloroplatinate de choline correspondent à 33 g. 45 de choline.

Le dosage ainsi pratiqué nous a donné, exprimé en choline : 0,26 p. cent grammes d'extrait fluide «  $S^3$  ».

**Composition d'un extrait fluide**  
(Résultats analytiques)

EXTRAIT FLUIDE « S<sup>3</sup> ».

|                                                                                                                      |       |   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|---|
| Extrait à 100° .....                                                                                                 | 16,40 | % |
| Alcaloïdes totaux .....                                                                                              | 4,422 | » |
| Hydrastine .....                                                                                                     | 1,92  | » |
| Berbérine par différence .....                                                                                       | 2,502 | » |
| Tanins .....                                                                                                         | 2,24  | » |
| Acides résiniques .....                                                                                              | 1,30  | » |
| Substances réductrices à froid en<br>glucose .....                                                                   | 0,92  | » |
| Totalité des substances réductrices à<br>chaud en glucose .....                                                      | 3,15  | » |
| Substances réductrices à chaud ....                                                                                  | 2,23  | » |
| Substances réductrices à chaud après<br>interversion .....                                                           | 3,15  | » |
| Méconine . ....                                                                                                      | 0,26  | » |
| Cendres .....                                                                                                        | 0,764 | » |
| Glucoside, berbérine non extraite,<br>matières mucilagineuses et gom-<br>meuses, substances indétermi-<br>nées ..... | 4,261 | » |

Notre étude pharmacologique est avant tout comparative. Dans ce domaine aussi complexe que la pharmacie galénique, seule l'expérimentation sur un grand nombre de préparations similaires peut arriver à nous permettre de tirer des conclusions qui, sans avoir de valeurs absolues, peuvent cependant servir de fondements.

C'est pour cela que nous avons appliqué nos diverses méthodes d'investigation à une série d'échantillons d'extraits fluides d'hydrastis.

Les uns servant de témoins et préparés par nous-même, selon le Codex, à partir de poudre de rhizome d'hydrastis.

Ce sont les extraits A, B, C.

Les autres V, D, G, N, S<sup>1</sup>, S<sup>2</sup>, S<sup>3</sup> sont les extraits achetés dans l'industrie pharmaceutique.

A, a été préparé à partir d'une poudre d'hydrastis qui nous a été livrée par une maison de droguerie pharmaceutique en même temps que l'extrait commercial « S<sub>1</sub> » préparé par elle-même.

Pour B, même remarque, il correspond à l'extrait commercial « V ».

Pour C, même remarque, il correspond à l'extrait commercial « S<sup>3</sup> ».

Notre étude a donc porté sur dix échantillons différents.

---

# ESSAIS PHYSIQUES



## POIDS SPECIFIQUE

---

Seule, la Pharmacopée italienne indique : l'extrait fluide d'hydrastis doit avoir un poids spécifique qui peut varier entre 1.070 et 1.090.

Les autres Pharmacopées sont muettes.

Cependant, la question de la valeur du poids spécifique des extraits fluides a intéressé de nombreux pharmacologues.

Warin (1901) (22), après avoir préparé à l'aide d'un même échantillon d'hydrastis un extrait fluide selon la Pharmacopée anglaise, américaine, suisse ou allemande, indique les différences de poids spécifiques qui, à 15°, varient de 1.006 à 1.072.

|                                                                |       |
|----------------------------------------------------------------|-------|
| Pharmacopée suisse ou allemande (alcool à 70°) . . . . .       | 1.006 |
| Pharmacopée américaine (alcool 70° + glycérine 10 %) . . . . . | 1.072 |
| Pharmacopée anglaise (alcool à 45°) . . . . .                  | 1.041 |

Astruc (23), dans son traité de Pharmacie, adopte la densité 1.006 pour l'extrait français.

Ragoucy (24) déclare avoir trouvé une variation du poids spécifique de 972 à 998.

Ziegler (25) admet un poids spécifique moyen de 980.

Hoger (26), préparant lui-même ses extraits, trouve un poids spécifique moyen de 981, alors que les extraits commerciaux examinés par lui donnent 985.

D'autres expérimentateurs indiquent des variations semblables : Dulière (27), Buttin (28), Belloni (29), Lincke (30), Knapp (31), Serger (32).

Nous avons également voulu contrôler les assertions de ces différents expérimentateurs. Pour la détermination des poids spécifiques, nous avons utilisé la balance à densité.

Une étude critique de cette méthode faite par H. Serger (33), nous montre que l'erreur provenant de ce mode de détermination est de l'ordre de 0,025 p. cent. Erreur tout à fait superposable à celle que l'on commet couramment en déterminant le poids spéci-

lique par la méthode du flacon à densité. La détermination par la balance à densité est beaucoup plus rapide, ce qui n'est pas à dédaigner.

Nous avons déterminé pour chaque extrait le poids spécifique à  $+ 5^{\circ}$ , à  $+ 15^{\circ}$  et à  $+ 35^{\circ}$ .

Voici réunis en un tableau nos résultats :

| EXTRAITS             | POIDS SPECIFIQUE |                |                | Variation de poids<br>pour $1^{\circ}$ de température |
|----------------------|------------------|----------------|----------------|-------------------------------------------------------|
|                      | $+ 5^{\circ}$    | $+ 15^{\circ}$ | $+ 35^{\circ}$ |                                                       |
| A .....              | 988,6            | 981,3          | 968,5          | 0,67                                                  |
| B .....              | 1005, 1          | 999,2          | 985,8          | 0,64                                                  |
| C .....              | 1000,5           | 992,7          | 977,4          | 0,77                                                  |
| V .....              | 1036,6           | 1030,1         | 1018,0         | 0,62                                                  |
| D .....              | 1016,5           | 1010,0         | 996,0          | 0,68                                                  |
| G .....              | 972,8            | 966,0          | 951,8          | 0,70                                                  |
| R .....              | 1045,5           | 1038,5         | 1022           | 0,78                                                  |
| S <sup>1</sup> ..... | 987,0            | 980,5          | 967,3          | 0,66                                                  |
| S <sup>2</sup> ..... | 987,2            | 980,3          | 967,2          | 0,66                                                  |
| S <sup>3</sup> ..... | 1000,1           | 991,5          | 977,7          | 0,74                                                  |

Nous constatons :

1° Que les extraits obtenus par nous-même (A, B, C) ont un poids spécifique à  $+ 15^{\circ}$  qui varie entre 980 et 1.000.

2° Que la moyenne de variation de poids par degré de température est 0 g. 682 entre  $+ 5^{\circ}$  et  $+ 35^{\circ}$ .

Nous pouvons établir une formule qui permettra de calculer approximativement le poids spécifique d'un extrait fluide.

Poids spécifique à  $+ 15^{\circ}$  = poids spécifique à  $X^{\circ}$  +  $(t \times 0,682)$ .

Dans cette formule t. représente le nombre de degrés en plus ou en moins de  $15^{\circ}$ .

Par exemple :

Pour l'extrait D : le poids spécifique à  $+ 35^{\circ}$  est de 996 à  $15^{\circ}$  ; son poids spécifique est de :

$$\text{Psp. à } + 15^{\circ} = 996 + (20 \times 0,682) = 1009,64.$$

Le poids spécifique trouvé expérimentalement est de 1010.

Dans les cas extrêmes : par exemples, extraits « R » ou « V », l'erreur n'excède jamais 2 p. 1000 pour une variation de température de  $20^{\circ}$ .

Il nous semble donc que nous pourrions, étant données les variations importantes des poids spécifiques d'un extrait à l'autre, utiliser sans inconvénient cette formule pour la correction du poids spécifique nécessitée par la température.

Nous ajouterons que nous n'avons jamais rencontré, ni dans nos préparations, ni dans les produits commerciaux, un extrait fluide d'hydrastis dont le poids spécifique soit compris dans les limites indiquées par la Pharmacopée italienne (1070-1090). Il convient même de faire ressortir que seuls trois extraits (V. D. R. ) ont un poids spécifique supérieur à 1000, et que parmi ceux-ci le poids spécifique d'un seul (R) s'approche de 1.040.

## EXTRAIT SEC

La question de la valeur de la détermination de l'extrait sec d'un extrait fluide a donné lieu, en général, pour tous les extraits fluides, et en particulier en ce qui concerne l'extrait fluide d'hydrastis, à de nombreuses controverses.

Certains pharmacologues veulent voir dans la richesse en extrait sec un critère de sa valeur thérapeutique, d'autres un caractère d'authenticité et de pureté dans la fabrication. Ragoucy (24), Ziegler (25), Belloni (29), Knapp (37), Linke (34), Hoger (26).

D'autres expérimentateurs, et parmi ceux-ci Warin (22), font déjà de sérieuses réserves (voir Warin, p. 16).

« Jusqu'alors, la valeur d'un extrait fluide a été estimée d'après son rendement en extrait sec. Ce genre d'évaluation n'est cependant pas toujours exact ».

La Pharmacopée française n'indique pas de pratiquer la détermination de l'extrait sec dans l'essai des extraits fluides. D'autres Pharmacopées indiquent un taux minimum d'extrait sec. Cependant, si l'on admet cette caractéristique, qui est généralement fort utile à déterminer en chimie analytique et sur laquelle reposent des règles fondamentales d'appréciation de pureté, de conformité ou de falsifications, il convient d'uniformiser la méthode d'obtention de cet extrait sec. Cette détermination, se faisant généralement sur une prise d'essai peu importante, les erreurs multipliées finissent par retentir d'une manière non négligeable sur le rapport pour cent,

terme d'expression du résultat. Ces différences sont souvent imputables au *modus operandi*, qui varie considérablement selon la Pharmacopée considérée ou l'expérimentateur.

Certaines Pharmacopées sont muettes quant à la manière d'obtenir un extrait sec (allemande, espagnole, française, hollandaise, russe, suédoise).

D'autres indiquent simplement : extrait obtenu à 100° (anglaise, américaine, italienne, japonaise) ; seules sont plus explicites : la Pharmacopée belge, qui indique une évaporation au B. M. bouillant de l'alcool, puis une dessiccation à poids constant à l'étuve à eau 98°-100°. La Pharmacopée suisse, qui utilise l'évaporation au B. M., puis la dessiccation à poids constant à l'étuve à air réglée à 103°-105°.

Parmi les expérimentateurs, Ragoucy utilise le B. M. à 100°, puis l'étuve à 105°, Hoger également.

Ziegler le B. M., puis l'étuve à 100°-105° durant une heure et demie à deux heures.

Belloni le B. M. (bouillant, sans spécification).

Warin, cependant, déjà signalait les ennuis d'une dessiccation irraisonnée et, le premier, il préconise l'emploi d'un B. M. spécial à capsule et à cheminée d'évacuation de vapeur, pour éviter l'humidification de l'extrait sec par la vapeur fournie par le B. M. ordinaire.

Pour nous, en vue d'uniformiser les procédés d'analyse, nous avons utilisé un B. M. décrit comme étant le modèle officiel à utiliser dans la détermination de l'extrait sec du lait.

Sa description rappelle celle donnée par Warin : « C'est un B. M. fermé par un couvercle de cuivre dans lequel sont ménagées des alvéoles plongeant dans l'eau bouillante du B. M. et le dégagement de vapeur de celui-ci se fait par une cheminée latérale ». Il convient d'ajouter à cette description, que le couvercle doit être parfaitement adapté au B. M. de manière à éviter les échappements de vapeur d'eau qui viendraient hydrater l'extrait sec en cours d'obtention. Au terme de la dessiccation, l'extrait sec est, en effet, excessivement hygroscopique et il ne faut négliger aucune précaution, aussi minime soit-elle, pour éviter cette erreur. C'est pour cela que la cheminée latérale d'échappement est remplacée par un condensateur en cuivre à circulation d'eau froide. Aucune trace

de vapeur ne se trouve ainsi libérée dans l'atmosphère immédiate des capsules à évaporation.

Les dimensions des capsules et des alvéoles du B. M. doivent également être fixées, afin que la vitesse d'évaporation soit normalisée. Les capsules en quartz translucides sont cylindriques et ont les dimensions suivantes : diamètre extérieur, 70 m/m, ce qui fait un diamètre intérieur de 65-66 m/m environ. Hauteur extérieure, 20 m/m, soit une profondeur de 18 m/m environ.

Les alvéoles auront un diamètre de 72 m/m, pour une profondeur de 25 m/m.

L'extrait sec sera déterminé sur 5 g. d'extrait fluide et la capsule ne sera placée que sur le B. M. préalablement porté à l'ébullition.

L'évaporation de l'extrait sera poursuivie sans interruption pendant quatre heures. Puis, la capsule sera placée pour refroidissement dans l'exsiccateur à  $SO^4 H^2$  et pesée.

$$(5 - p) \times 20 = \text{perte en alcool p. cent}$$

$$p \times 20 = \text{extrait sec p. cent.}$$

Nous avons déterminé la durée de chauffe en effectuant des pesées successives, qui nous ont permis d'établir la marche de l'évaporation.

Exemple sur 3 extraits :

| DUREE          | EXTRAIT                                    |        |                                            |        |                                            |        |
|----------------|--------------------------------------------|--------|--------------------------------------------|--------|--------------------------------------------|--------|
|                | A<br>Capsule<br>+ 5 g = 32,7245<br>extrait |        | B<br>Capsule<br>+ 5 g = 32,2030<br>extrait |        | C<br>Capsule<br>+ 5 g = 32,7765<br>extrait |        |
|                | Poids                                      | Perte  | Poids                                      | Perte  | Poids                                      | Perte  |
| 1 heure .....  | 28,7815                                    | 3,943  | 33,5345                                    | 3,6685 | 28,8710                                    | 3,9055 |
| 2 heures ..... | 28,7250                                    | 0,046  | 33,5285                                    | 0,0060 | 28,8620                                    | 0,0090 |
| 2 h. 45 .....  | 28,7190                                    | 0,0105 | 33,5225                                    | 0,0060 | 28,8560                                    | 0,0060 |
| 3 h. 01 .....  | 28,7180                                    | 0,0010 | 33,5165                                    | 0,0060 | 28,8530                                    | 0,0030 |
| 3 h. 15 .....  | 28,7160                                    | 0,0020 | 33,5085                                    | 0,0060 | 28,8500                                    | 0,0030 |
| 3 h. 30 .....  | 28,7145                                    | 0,0015 | 33,5065                                    | 0,0020 | 28,8460                                    | 0,0040 |
| 3 h. 45 .....  | 28,7145                                    | 0      | 33,5060                                    | 0,0005 | 28,8455                                    | 0,0005 |
| 4 h. 00 .....  | 28,7145                                    | 0      | 33,5060                                    | 0      | 28,8455                                    | 0,     |
| 4 h. 15 .....  | 28,7145                                    | 0      | 33,5060                                    | 0      | 28,8455                                    | 0,     |

RESULTATS OBTENUS

|                                      | A     | B     | C     | V     | G      | D     | R     | S <sup>1</sup> | S <sup>2</sup> | S <sup>3</sup> |
|--------------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|----------------|----------------|----------------|
| Perte pour<br>5 g. ...               | 4,01  | 3,697 | 3,93  | 3,635 | 4,0525 | 3,568 | 3,380 | 4,2284         | 4,229          | 4,180          |
| Résidu à<br>100° ....                | 0,99  | 1,303 | 1,069 | 1,365 | 0,9475 | 1,432 | 1,620 | 0,7716         | 0,771          | 0,820          |
| Résidu à<br>100° pour<br>100 gr. ... | 19,80 | 26,06 | 21,38 | 27,30 | 18,95  | 28,64 | 32,40 | 15,43          | 15,42          | 16,40          |

L'extrait sec à 100° varie donc : pour les extraits types de ..... 19,80 à 26,06  
pour les extraits commerciaux de 15,42 à 32,40  
Soit du simple au double.

Warin, dont le procédé d'évaporation est comparable à celui étudié par nous, préconise une durée d'évaporation de 3 à 4 heures et ses résultats sont les suivants : 22 à 24,36 p. cent d'extrait sec. Pour d'autres auteurs : Ziegler : 20,90 p. cent. Ragoucy, 18,90 à 27,90 p. cent. Roger, essais personnels, 20,5 à 21 p. cent. Dulière, 20 p. cent (35).

R. Schreiber (36), préparant avec la même poudre d'hydrastis des extraits fluides selon diverses méthodes (allemande, suisse III, belge III, américaine VIII, hollandaise IV), obtient une différence d'environ 10 p. cent quant à la teneur en extrait sec, soit de 20,34 à 22,60 p. cent.

Linke (34), préparant avec la même poudre d'hydrastis des extraits fluides par macération à froid, obtient de 20,64 à 20,78 p. cent d'extrait sec ; opérant par la méthode de César et Lorentz, par épuisement au réfrigérant à reflux à chaud, 26 p. cent d'extrait sec.

Divers produits commerciaux examinés par lui, fournissent 14,20 p. cent seulement d'extrait sec.

De toutes les Pharmacopées, la Pharmacopée hollandaise nous indique que l'extrait fluide d'hydrastis doit donner de 17 à 22 p. cent d'extrait sec.

Cependant, cette Pharmacopée ne nous indique pas, comme nous l'avons déjà dit, de *modus operandi* et inversement, les Pharmacopées belge et suisse, qui spécifient le mode opératoire, ne nous fixent pas quant aux résultats à obtenir.

La Pharmacopée japonaise opère à 100° et exige au moins 20 p. cent d'extrait.

La Pharmacopée allemande, dans ses précédentes éditions, indiquait 20 p. cent d'extrait sec minimum (Hoger). Cette spécification a depuis disparu du formulaire officiel.

## ETUDE DES CENDRES

La calcination directe de l'extrait préalablement desséché, nous a paru devoir être rejetée, car nul n'ignore les pertes importantes observées avec cette manière d'opérer ; pertes dues surtout à la volatilisation des chlorures.

Nous avons donc utilisé la calcination sulfurique, qui a l'avantage de fixer, sous forme de sulfates non volatils, la plupart des sels.

Le résidu de la détermination de l'extrait sec que nous possédons convient parfaitement pour l'obtention des cendres sulfuriques. Il provient de l'évaporation au B. M. de 5 g. d'extrait fluide.

Nous le traitons par 1 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique concentré, de manière à l'imprégner complètement. Puis la capsule est placée sur le bain de sable et chauffée.

Peu à peu l'acide sulfurique distille, la masse noircit, se boursouffle, se craquelle. A ce moment-là, nous portons notre capsule au moufle et nous calcinons jusqu'à disparition totale de la matière carbonnée.

La technique régulière de refroidissement à l'exsiccateur est alors suivie et nous pesons enfin le résidu contenu dans la capsule.

Voici les résultats rapportés à 100 g. d'extrait fluide :

| Extrait . . . . .                   | A    | B    | C    | V    | D    | R    | G    | S <sup>1</sup> | S <sup>2</sup> | S <sup>3</sup> |
|-------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|----------------|----------------|----------------|
| Cendres sulfuriques p. cent . . . . | 0,90 | 1,52 | 0,72 | 1,42 | 0,79 | 1,52 | 0,55 | 0,67           | 0,63           | 0,764          |

Pour les extraits préparés par nous-même A, B, C, nous avons pu déterminer les composés minéraux contenus dans les poudres d'hydrastis A, B, C qui ont servi à leur préparation.

Nous avons obtenu les cendres sulfuriques en partant de 5 g. de poudre humectés par 5 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique concentré, et en opérant ensuite comme il a été indiqué.

Voici les résultats rapportés à 100 g. de poudre :

| Poudre :                            | A    | B    | C    |
|-------------------------------------|------|------|------|
| Cendres sulfuriques pour cent ..... | 4,90 | 6,70 | 4,30 |

Il n'y a donc qu'une proportion relativement faible des composés minéraux existant dans la plante qui se solubilise et passe dans la préparation galénique.

Nous avons pensé ensuite qu'il serait intéressant de connaître quels sont les éléments minéraux qui se solubilisent et s'ils sont solubles tous proportionnellement à leur concentration initiale, ou bien si certains d'entre eux sont plus solubles par rapport aux autres ?

Nous avons donc étudié systématiquement les cendres sulfuriques ainsi obtenues et dans chacune nous avons dosé : la silice, le fer et l'alumine, la chaux, la magnésie et la potasse.

Le processus opératoire est le suivant :

#### SILICE $\text{Si O}^2$ .

Les cendres sont additionnées de 5 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique dilué au demi. On évapore à siccité, au bain de sable. Le résidu sec subit un deuxième traitement identique. La silice est ainsi insolubilisée.

Le résidu est alors repris par de l'acide chlorhydrique à 1/10.

On filtre sur un filtre sans cendres.

Le filtre est lavé à l'eau distillée jusqu'à ce que la liqueur de lavage ne précipite plus par  $\text{NO}^3 \text{ Ag}$ . (R).

La liqueur et les eaux de lavage sont réunies et conservées.

Le filtre est desséché, puis calciné dans un creuset de quartz préalablement taré. La différence de poids nous donne la silice  $\text{Si O}^2$ .

#### FER ET ALUMINE $\text{Fe}^2 \text{ O}^3 + \text{Al}^2 \text{ O}^3$ .

La liqueur précédente, débarrassée de  $\text{Si O}^2$ , est concentrée dans un Becher jusqu'à 30 cm<sup>3</sup> environ. Nous ajoutons deux à trois gouttes de  $\text{NO}^3 \text{ H}$  pour suroxyder le fer et nous portons quelques minutes à l'ébullition.

Nous ajoutons ensuite un excès de chlorure d'ammonium et de l'ammoniaque, jusqu'à réaction franchement alcaline.

Le fer et l'alumine précipitent à l'état de sesquioxydes. Nous recueillons le précipité sur un filtre sans plis. Nous le lavons à

l'eau distillée bouillante jusqu'à ce que les eaux de lavage ne précipitent plus par  $\text{NO}^3 \text{Ag}$  (R), en milieu azotique.

La liqueur et les eaux de lavage sont réunies et conservées. Le précipité est redissous dans quelques  $\text{cm}^3$  d'eau chlorhydrique et précipité par l'ammoniaque, puis on acidifie légèrement par l'acide acétique. Le fer et l'alumine sont insolubles. La chaux est soluble. On filtre sur un filtre sans cendres. On lave comme précédemment.

Ces liqueurs sont ajoutées aux précédentes.

Le filtre est desséché à l'étuve, puis calciné une première fois. Nous laissons refroidir et suroxydons le fer, qui a pu être réduit par le carbone du papier filtre, par une goutte d'acide nitrique.

Nous calcinons une deuxième fois.

Après refroidissement, une pesée indiquera l'augmentation de poids due au mélange  $\text{Fe}^2 \text{O}^3 + \text{Al}^2 \text{O}^3$ .

#### CHAUX $\text{OCa}$ .

La liqueur précédente est concentrée dans un Becher à  $30 \text{ cm}^3$ . On acidifie par l'acide acétique et, la liqueur étant maintenue à l'ébullition, on ajoute goutte à goutte un excès d'une solution saturée d'oxalate d'ammoniaque.

La chaux précipite à l'état d'oxalate de chaux.

On laisse reposer vingt-quatre heures. On recueille le précipité sur un filtre sans plis. On le lave par de l'eau acétique au 1/100. On termine par un dernier lavage avec quelques  $\text{cm}^3$  d'eau distillée jusqu'à réaction neutre au tournesol.

Le filtre est alors crevé et, après un jet de pissette, on recueille le précipité d'oxalate de chaux dans un petit Becher. On acidifie par de l'acide sulfurique au quart.

On porte à  $70^\circ\text{--}80^\circ$  et on titre l'acide oxalique libéré par une solution de  $\text{Mn O}^4\text{K N}/10$ .

$1 \text{ cm}^3 \text{ Mn O}^4\text{K N}/10 \rightarrow 0 \text{ g. } 0028 \text{ de O Ca.}$

#### MAGNÉSIE $\text{OMg}$ .

Les liqueurs de filtration, de reprise et de lavage de la chaux sont concentrées à  $30 \text{ cm}^3$  environ. On laisse refroidir. Elles sont additionnées ensuite d'ammoniaque et d'un excès de phosphate d'ammoniaque. On agite longuement en frottant les parois du Becher avec un agitateur en verre pour favoriser la précipitation.

Puis on laisse reposer 24 heures.

La magnésie est précipitée à l'état de phosphate ammoniacomagnésien.

Le précipité est recueilli sur un filtre sans cendres ; lavé à l'eau ammoniacale jusqu'à ce que les eaux de lavage ne précipitent plus par le  $\text{NO}_3 \text{Ag}$  (R) en milieu azotique.

La liqueur et les eaux de lavage sont réunies et conservées.

Le précipité est séché à l'étuve à  $100^\circ$ . Puis calciné au moufle dans un creuset taré.

Le phosphate ammoniacal passe à l'état de pyro-phosphate de magnésie. On pèse.

Le poids multiplié par 0,3622 donne la teneur en magnésie, O Mg.

#### POTASSE $\text{OK}^2$ .

La liqueur précédente et les eaux de lavage sont évaporées lentement dans une capsule de quartz de  $30 \text{ cm}^3$  environ au bain de sable, en évitant les projections.

Après évaporation on calcine au moufle pour chasser les sels ammoniacaux et détruire l'excès d'acide oxalique.

Le résidu est repris par  $10 \text{ cm}^3$  d'eau acétique à 1/10. La liqueur contient le potassium.

La potasse a été dosée selon la technique de Garola et Braun (Deniges, p. 125, tome II) à l'aide du réactif au cobaltinitrite.

Le précipité a été recueilli sur un filtre en verre d'Iéna n° 3 G 3 préalablement taré, lavé à l'eau acétique à 1/10, puis à l'alcool à  $95^\circ$  ; séché ensuite deux heures à l'étuve à  $100^\circ$  et pesé après refroidissement à l'exsiccateur.

Le poids du précipité multiplié par 0,2704 donne le poids en  $\text{OK}^2$ .

#### RESULTATS OBTENUS (en milligrammes) EXTRAITS FLUIDES

| Extrait                                             | A   | B     | C   | V     | D   | R     | G   | S <sup>1</sup> | S <sup>2</sup> | S <sup>3</sup> |
|-----------------------------------------------------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|----------------|----------------|----------------|
| Cendres sulfuriques .....                           | 960 | 1,520 | 720 | 1,420 | 790 | 1,520 | 550 | 670            | 630            | 764            |
| $\text{SiO}^2$ .....                                | 246 | 300   | 240 | 150   | 150 | 160   | 210 | 210            | 220            | 225            |
| $\text{Te}^2 \text{O}^3 \text{ Al}^2 \text{O}^3$ .. | 80  | 170   | 80  | 150   | 70  | 150   | 40  | 20             | 28             | 32             |
| O Ca .....                                          | 32  | 24    | 25  | 26    | 52  | 24    | 20  | 34             | 28             | 35             |
| O Mg .....                                          | 160 | 290   | 80  | 170   | 200 | 170   | 110 | 114            | 100            | 120            |
| O $\text{K}^2$ .....                                | 256 | 350   | 200 | 464   | 200 | 472   | 110 | 186            | 170            | 230            |
| Indosé                                              |     |       |     |       |     |       |     |                |                |                |
| O Na + $\text{SO}^4 \text{H}^2$                     | 132 | 386   | 95  | 460   | 118 | 544   | 90  | 106            | 84             | 122            |

# POUDRES TYPES

| POUDRE                                                                | RESULTATS OBTENUS (en mmgs) |      |      |
|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------|------|------|
|                                                                       | A                           | B    | C    |
| Cendres sulfuriques .....                                             | 4900                        | 6700 | 4300 |
| Si O <sup>2</sup> .....                                               | 1600                        | 2500 | 1400 |
| Fe <sup>2</sup> O <sup>3</sup> + Al <sup>2</sup> O <sup>3</sup> ..... | 400                         | 500  | 600  |
| O Ca .....                                                            | 470                         | 580  | 490  |
| O Mg .....                                                            | 500                         | 500  | 500  |
| O K <sup>2</sup> .....                                                | 311                         | 450  | 245  |
| Indosé O Na + SO <sup>4</sup> H <sup>2</sup> ..                       | 1820                        | 2170 | 1065 |

De cette étude, il ressort que deux faits sont très caractéristiques :

1° Comme nous l'avons déjà énoncé, la préparation galénique ne contient que de 15 à 25 p. cent environ des minéraux existant dans le végétal.

2° Parmi les ions solubilisés, on doit remarquer que le potassium se dissout en forte proportion.

En revanche, les autres éléments se dissolvent mal, le calcium en particulier.

## DEGRE ALCOOLIQUE

La détermination du degré alcoolique d'un extrait fluide terminé a été jusqu'à présent ignorée par les formulaires légaux français.

Pour être juste, il faut dire qu'il en est ainsi des Pharmacopées allemande, belge, espagnole, hollandaise, italienne, japonaise, mexicaine et suédoise.

Il n'en est pas de même dans d'autres pays.

La Pharmacopée américaine : l'extrait fluide d'hydrastis terminé doit titrer de 47° à 52°. La Pharmacopée anglaise : l'extrait fluide d'hydrastis n'est pas inclus dans la pharmacopée de 1932, mais le titre alcoolique des autres extraits fluides est toujours indiqué ; par exemple, l'extrait fluide d'ipéca doit avoir un degré alcoolique terminal de 75° à 80°.

La pharmacopée russe : 63° à 65° d'alcool. La Pharmacopée suisse : l'extrait fluide d'hydrastis est obtenu par dilution de 20 g. d'un extrait sec titrant 9,75 à 10,25 p. cent d'hydrastine dans 80 par-

ties d'alcool dilué (70°). Le titre terminal est donc inclus dans le *modus operandi*. La Pharmacopée suisse indique cependant (p. 30), le moyen de déterminer le degré alcoolique d'un extrait fluide terminé.

Quelles sont donc les méthodes légales et utilisées :

### 1° — PHARMACOPEE ANGLAISE

Procéder selon la méthode I, II, III ou IV ainsi qu'il est indiqué à la table limite des alcools.

**Méthode I.** — Mesurer 25 millilitres de la préparation dans un flacon gradué à la température de 15°.

Transvaser dans un ballon de 500 à 800 cm<sup>3</sup>, diluer avec 100 à 150 cm<sup>3</sup> d'eau, et ajouter une pincée de pierre ponce pulvérisée.

Adapter le ballon à un condensateur, et distiller jusqu'à 90 cm<sup>3</sup> dans un flacon gradué de 100 cm<sup>3</sup>. Porter le distillat à la température initiale et compléter à 100 cm<sup>3</sup> avec de l'eau à la même température.

Déterminer le poids spécifique et l'indice de réfraction de la solution. Cela fait, se reporter à la table éthyl-alcool (quadruple grandeur). L'indice de réfraction ne doit pas différer de plus de 0,0002 de celui correspondant au pourcentage d'alcool donné par le poids spécifique.

Si l'indice de réfraction diffère de plus de 0,0002, traiter 75 cm<sup>3</sup> du distillat par du chlorure de sodium pulvérisé et de l'éther de pétrole (point d'ébullition 50° à 60°), comme dans la méthode II, distiller environ 70 cm<sup>3</sup> et porter le distillat à 75 cm<sup>3</sup>. Si l'indice de réfraction ne correspondant encore pas au poids spécifique, le distillat contient plusieurs impuretés, et le poids spécifique ne peut pas indiquer la proportion vraie d'alcool éthylique.

**Méthode II.** — Mesurer 25 cm<sup>3</sup> de la préparation dans un ballon gradué à une température constante de 15°, transvaser dans une ampoule à décantation, diluer avec environ 100 cm<sup>3</sup> d'eau et ajouter une quantité suffisante de chlorure de sodium pulvérisé pour saturer le liquide. Ajouter environ 100 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole (point d'ébullition 50° à 60°) et agiter vigoureusement pendant deux à trois minutes. Abandonner le mélange au repos durant 15 à 30 minutes et laisser écouler la couche inférieure dans le ballon à distiller.

L'éther de pétrole est agité avec 25 cm<sup>3</sup> de solution saturée salée, laisser de nouveau au repos et faire écouler le liquide inférieur dans la première solution salée.

Quand les tables « d'alcool limite » indiquent la double séparation, verser la solution salée dans une ampoule à décantation et l'agiter, avec à nouveau 100 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole (50° à 60°), transférer ensuite dans le ballon à distiller. Laver l'éther de pétrole avec la liqueur de lavage comme précédemment.

Rendre le mélange des solutions juste alcalin avec la solution n° I de soude avec la phénolphthaléine solide comme indicateur, ajouter une pincée de pierre ponce en poudre et distiller 90 cm<sup>3</sup> et déterminer le titre de l'alcool éthylique selon la méthode I.

**Méthode III.** — Mesurer 25 cm<sup>3</sup> de la préparation dans un ballon jaugé maintenu à la température de 15°. Transvaser dans un ballon de 500 à 800 cm<sup>3</sup> de capacité, diluer avec 100 à 150 cm<sup>3</sup> d'eau, et ajouter une pincée de pierre ponce pluvérifiée, relier le ballon à condensateur descendant, et distiller environ

100 cm<sup>3</sup>. Transvaser dans une ampoule à décantation et déterminer le titre de l'alcool selon la méthode II.

**Méthode IV.** — Mesurer 25 cm<sup>3</sup> dans un ballon jaugé maintenu à la température de 15°. Transvaser dans une ampoule à décantation. Diluer avec environ 100 cm<sup>3</sup> d'eau et ajouter 100 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole (50° à 60°), ajouter lentement 25 cm<sup>3</sup> d'un mélange froid de 1 volume d'acide sulfurique et 3 volumes d'eau, et agiter énergiquement pendant 2 à 3 minutes.

Laisser reposer le mélange pendant 15 minutes et laisser couler la solution inférieure dans un ballon à distiller. Laver l'éther de pétrole dans l'ampoule à décantation en l'agitant avec 28 cm<sup>3</sup> de la solution sulfurique, laisser en repos et laisser écouler la liqueur de lavage dans la première liqueur acide.

Ajouter une pincée de pierre ponce pulvérisée. Distiller 90 cm<sup>3</sup> et déterminer le titre alcoolique selon la méthode I.

## 2° — PHARMACOPEE U. S. A.

**Alcool détermination.** — Placer 25 cm<sup>3</sup> de la préparation mesurée à une température fixée comprise entre 15° et 30°, dans un ballon à distiller de 200 cm<sup>3</sup> de capacité pouvant s'adapter à un appareil à condensation.

Ajouter 50 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. Distiller dans un ballon de 50 cm<sup>3</sup>, recueillir environ 48 cm<sup>3</sup> de distillat en une demi-heure. Il ne doit pas y avoir de produit volatil autre que l'alcool, porter à la température initiale et compléter à 50 cm<sup>3</sup> avec de l'eau distillée.

Déterminer le poids spécifique du distillat à une température fixe comprise entre 15° et 30° à l'aide d'un ballon à densité et déduire le titre alcoolique à l'aide des tables alcoolométriques et multiplier par le facteur de dilution pour avoir le titre de l'alcool dans la préparation.

Si la préparation contient moins de 25 pour cent d'alcool, il faut utiliser 50 cm<sup>3</sup> pour l'analyse, si la préparation contient plus de 50 pour cent d'alcool il faut employer 10 cm<sup>3</sup>. Dans tous les cas, le distillat sera porté à 50 cm<sup>3</sup>.

Si la préparation contient des acides volatils, on neutralise avec une solution de soude, si elle contient des bases volatiles, on neutralise par de l'acide sulfurique dilué. Si l'un et l'autre acide et base volatils étaient présents, on neutralise d'abord par de l'acide sulfurique dilué, et on distille environ 50 cm<sup>3</sup>. On neutralise le distillat par la soude, on ajoute 25 cm<sup>3</sup> d'eau et on distille ainsi qu'il est indiqué, on porte à 50 cm<sup>3</sup>.

Si camphre, le chloroforme, l'éther, le essences ou tous autres produits volatils étaient soupçonnés, on vide le distillat dans une ampoule à décantation, on sature de chlorure de sodium et l'on agite avec 15 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole pendant 1 ou 2 minutes.

S'il y avait de la glycérine, on dilue le liquide avec une quantité suffisante d'eau distillée afin qu'il ne contienne pas plus de 50 pour cent de glycérine. On verse dans le ballon et on distille.

On laisse reposer, et quand la séparation parfaite de la liqueur salée est obtenue, on la décante dans une seconde ampoule à décantation et on répète l'extraction avec 15 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole.

La solution salée alcoolique est versée dans un ballon à distiller de 200 cm<sup>3</sup>.

On lave l'éther de pétrole avec 25 cm<sup>3</sup> d'eau saturée de sel et l'on verse cette eau de lavage dans le ballon à distiller. On distille directement dans un flacon jaugé de 50 cm<sup>3</sup> et on recueille en une demi-heure environ 45 à 48 cm<sup>3</sup>. On porte à la température initiale et on complète à 50 cm<sup>3</sup>. On détermine le poids spécifique et on déduit le degré alcoolique.

### 3° PHARMACOPÉE SUISSE

**Détermination du titre alcoolique.** — Par titre alcoolique, la Pharmacopée entend la teneur d'un liquide en alcool éthylique, en pour cent, en volume.

Pour cette détermination, introduisez 100 cm<sup>3</sup> de vin ou 25 cm<sup>3</sup> de teinture ou d'extrait fluide, à la température de 15° plus 75 cm<sup>3</sup> d'eau dans un ballon de 250 cm<sup>3</sup> de capacité. Reliez ce ballon par un tube à boules et des bouchons de caoutchouc à un réfrigérant descendant à serpentín vertical, ou à un réfrigérant Liébig suffisamment long et large et modérément incliné. Un petit ballon jaugé de 100 cm<sup>3</sup> sert à recueillir le distillat. Distillez les deux tiers environ du liquide, puis placez, pendant une demi-heure, le petit ballon dans l'eau à 15°, et complétez jusqu'à la marque avec de l'eau de même température. On détermine le poids spécifique du mélange eau-alcool comme suit :

Après nettoyage et séchage, tarez exactement un pyromètre qui aura séjourné au moins 15 minutes dans la cage de la balance. Il doit avoir une capacité de 50 cm<sup>3</sup> et doit être muni d'un col de 6 cm. de long environ, avec une ouverture de 4 mm. au maximum (exception faite d'un élargissement cupuliforme pour le bouchon de verre à son extrémité supérieure), et portant à son tiers moyen une marque rodée. Ensuite, au moyen d'un entonnoir à tube finement étiré, versez dans le pyromètre, jusqu'au trait, le mélange eau-alcool à 15°. Pesez de nouveau exactement, videz le pyromètre, rincez-le soigneusement à l'eau, et remplissez-le d'eau distillée à 15° jusqu'au trait ; pesez encore une fois comme ci-dessus.

P 1 = poids du pyromètre vide.

P 2 = poids du pyromètre rempli d'eau.

P = poids du pyromètre rempli du liquide à examiner.

$$\text{Poids spécifique} = \frac{P - P 1}{P 2 - P 1}$$

Le tableau IX a donné le titre alcoolique exprimé en pour cent en volume correspondant à ce poids spécifique.

Pour les teintures et les extraits fluides, on multiplie encore par 4 la teneur en alcool trouvée.

Pour éviter la formation d'écume on peut, dans la détermination du titre alcoolique des teintures, et des extraits fluides, ajouter un peu d'acide tannique (tinct. Quillay, Tinct. Colocynthidis) ou, avant la distillation, précipiter les impurétés par l'acétate de plomb en substance (tinct. Ratanhia).

#### CRITIQUE.

La détermination du degré alcoolique par chacune de ces méthodes soit américaine, anglaise ou suisse, nécessite l'utilisation d'une dose relativement considérable d'extrait. Or, le pharmacien a intérêt à utiliser le moins possible de substances pour la réalisation des essais officinaux.

#### Méthode utilisée

Une méthode de dosage chimique de l'alcool a déjà été proposée par Martini et Nourrisson (37).

Nous avons utilisé la méthode d'oxydation sulfo-chromique de

l'alcool, préconisée par Nicloux (1896), modifiée par lui-même (1904), 1913, 1930) et appliquée par cet auteur à ce dosage de l'alcool dans le sang putréfié (38).

Pour le titrage de l'alcool, nous utiliserons la technique de Fabre et Bard (39).

Notre dosage a été effectué :

1° Sur les produits totaux d'entraînement par la vapeur d'eau.

2° Sur les produits totaux d'entraînement par la vapeur d'eau putréfiée par la méthode de Nicloux.

3° Un contrôle a été effectué par la méthode de distillation simple et obtention du degré alcoolique par la détermination du poids spécifique.

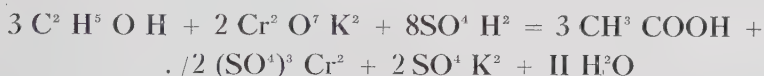
Nous utiliserons, pour effectuer nos dosages par la méthode sulfo-chromique de Nicloux (B. S. Ch. B n° 1931), les solutions titrées suivantes :

1° Bichromate de potasse :  $\text{Cr}^2 \text{O}^7 \text{K}^2$  : P. M. 294. 4.

Le bichromate est purifié par recristallisation dans l'eau distillée et les cristaux obtenus sont desséchés à l'étuve à 100°-105°.

Nous préparons dans du matériel préalablement lavé au bichromate sulfurique et rincé avec de l'eau bidistillée récemment préparée, une solution titrée à 4 g. 262 par litre.

Cette solution est titrée de façon à ce que 1 cm<sup>3</sup> oxyde 1 mg d'alcool, en acide acétique dans les conditions de l'expérimentation.



2° Permanganate de potasse. —  $\text{Mn O}^4 \text{K}$  : PM=158. 12.

Solution à 1 g. 373 par litre.

2 cm<sup>3</sup> de cette solution correspondent à 1 cm<sup>3</sup> de la solution de bichromate.

3° Sulfate de fer ammoniacal (sel de Mohr) —  $\text{SO}^4 \text{Fe}$ ,  $\text{SO}^4 (\text{NH}^4)^2$ , 6 H<sup>2</sup>O : PM : 392. 10.

Solution à 17 g. environ par litre.

4° Solution d'acide sulfurique à 66° p. cent en volume préparée avec de l'acide pur bouilli de densité 1,84, étendu de la moitié de son volume d'eau.

L'oxydation du mélange bichromate et acide sulfurique par de l'alcool doit se faire en vase clos, au B. M. à 85°, dans des conditions exactement déterminées que M. Nicloux a décrites et que

nous allons exposer pour assurer l'oxydation en acide acétique. En effet, « si l'acide est très concentré, employé en très grande quantité et à l'ébullition, il se forme de petites quantités d'acide carbonique ; si, au contraire, l'acide est quelque peu dilué, employé en quantité plus faible et à la température moins élevée, c'est de l'aldéhyde acétique qui prend naissance et qui, très volatil, échappe à l'oxydation ultérieure ».

### Mode opératoire

Nous utilisons la méthode décrite par Jaulmes (40), pour le dosage de l'acidité volatile des vins.

L'appareil, légèrement modifié, correspond au schéma suivant et permet un entraînement total par la vapeur d'eau :

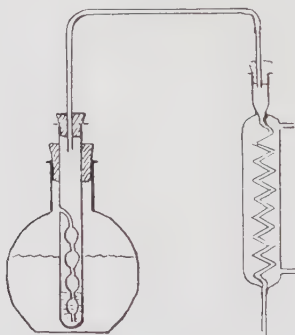


FIGURE 1

Nous plaçons 5 cm<sup>3</sup> d'extrait fluide dans le tube à entraînement et nous distillons 200 cm<sup>3</sup> environ dans un ballon jaugé de 500 cm<sup>3</sup>. Nous portons à 15° dans un bac d'eau froide, nous complétons à 500 cm<sup>3</sup> exactement avec de l'eau distillée et nous rendons homogène par agitation.

Nous mesurons 5 cm<sup>3</sup> de bichromate que nous plaçons dans un tube en verre Pyrex de 15 cm de long et d'un diamètre inférieur de 20 m/m fermé par un bouchon rodé. (Son volume est donc de 45 cm<sup>3</sup> environ).

Nous ajoutons, en refroidissant très énergiquement dans de l'eau glacée, 4 cm<sup>3</sup> de la solution d'acide sulfurique à 66 p. cent, de manière à ce que la concentration en SO<sup>4</sup> H<sup>2</sup> soit de 20 p. cent.

Nous prélevons ensuite 5 cm<sup>3</sup> du distillat que nous versons dans le mélange bichromate sulfurique refroidi.

Le bouchon est humecté d'acide sulfurique pur et assujetti sur le rodage par un lien.

Nous préparons également de la même façon un tube témoin en utilisant 5 cm<sup>3</sup> de bichromate, 4 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique et 5 cm<sup>3</sup> d'eau distillée.

Le bouchon est assujetti de la même façon.

Les deux tubes sont agités par renversement sur eux-mêmes, puis placés en même temps dans un B. M. maintenu à 85°. On note l'heure. L'eau du B. M. doit arriver au niveau de la partie du tube où se trouve le liquide. Toutes les 10 minutes, les tubes sont agités par renversement et immergés à nouveau très rapidement. Il faut surveiller très soigneusement, d'une part la température du B. M., d'autre part l'obturation des tubes, et enfin, le niveau de l'eau dans le B. M. L'agitation est indispensable, afin que les produits volatils condensés dans la partie haute du tube n'échappent point à l'action oxydante du bichromate.

Après une heure à 85°, on retire les deux tubes et on les plonge immédiatement dans un bain d'eau glacée afin d'arrêter l'oxydation. On débouche alors les tubes et on verse dans chacun 15 cm<sup>3</sup> de solution de sulfate de fer.

On titre l'excès de sel ferreux par le permanganate de potasse. Comme : 1 cm<sup>3</sup> de la solution de bichromate à 4 g. 262 par litre dans les conditions de l'expérimentation, oxyde en acide acétique 1 mg d'alcool.

Soit X le nombre de cm<sup>3</sup> de permanganate de potasse à 1 g. 373 par litre versés dans le tube à alcool.

Soit Y le nombre de cm<sup>3</sup> de permanganate versés dans le tube témoin.  $X - Y$

Nous avons :  $\frac{X - Y}{2} = N$  cm<sup>3</sup> de bichromate réduit par l'al-

cool contenu dans la prise d'essai de 5 cm<sup>3</sup> de distillat, soit n milligrammes d'alcool absolu.

$$\frac{n \times 500}{5} = \text{alcool en poids dans 5 cm}^3 \text{ d'extrait}$$

$$\frac{n \times 500 \times 20}{5} = (n \times 2.000) = \text{alcool en poids dans 100 cm}^3 \text{ d'extrait.}$$

Nous connaissons donc le titre pondéral de l'alcool et il nous suffit de nous reporter aux tables du Codex (pp. 834-835), pour connaître le titre alcoolique réel de l'extrait examiné. D'après l'auteur de la méthode, l'erreur relative est comprise entre 2/1.000 et 5/1.000 ; la prise d'essais contient, en effet, de 2 à 4 mg d'alcool.

Nous avons voulu déterminer, dans le cas de l'extrait fluide d'hydrastis, qu'elle était l'action perturbatrice amenée par les produits volatils ou entraînaux par la vapeur d'eau autre que l'alcool contenu dans le distillat. Pour cela, nous utiliserons, avons-nous dit, la technique de Nicloux, décrite par cet auteur dans son mémoire sur « L'alcool dans le sang putréfié et chez le cadavre » (41), modifiée ainsi qu'il suit : 50 cm<sup>3</sup> du distillat précédent sont transvasés dans un ballon Pyrex de 100 cm<sup>3</sup> pouvant être adapté à un appareil à distiller à réfrigérant spiralé descendant vertical. « On ajoute 1 cm<sup>3</sup> d'une solution à 20 p. cent de carbonate de soude anhydre et 0 cm<sup>3</sup> 5 d'une solution d'hypochlorite de potassium pur à 10° chlorométrique français. Le ballon est bouché avec du liège et placé dans un grand vase cylindrique à filtration chaude rempli d'eau à 55° ; on y laisse flotter le ballon que l'on abandonne à lui-même pendant 15 minutes. Après ces 15 minutes, au cours desquelles la température s'est abaissée jusqu'aux environs de 45°, on retire le ballon. Son contenu a changé d'odeur. Sous l'influence de ce traitement violent, si violent qu'on pourrait craindre une attaque possible de l'alcool, un très grand nombre de matières organiques sont oxydées, voire détruites. Le contenu du ballon est traité encore tiède par 2 cm<sup>3</sup> d'une solution de nitrate d'argent ammoniacal à 20 p. cent.

(A savoir : nitrate d'argent dissous dans 60 cm<sup>3</sup> d'eau, environ 20 g. Ammoniaque à 22° Bé : addition jusqu'à redissolution exacte du précipité, 23 à 25 cm<sup>3</sup>. Eau distillée : q. s. pour 100 cm<sup>3</sup>.)

Il se forme un précipité blanc qui brunit presque immédiatement).

Le ballon est alors adapté au réfrigérant. On chauffe doucement le contenu jusqu'à ce que le liquide commence à peine à bouillir. On retire du feu et on laisse le tout en cet état, à une température voisine de 100°, par conséquent pendant 5 minutes : on a soin, durant cet intervalle de temps, de chauffer à nouveau une ou deux fois le ballon, mais très légèrement et en évitant toujours de provoquer l'ébullition. Les cinq minutes écoulées, on distille. Le liquide de réaction, fortement alcalin (carbonate d'ammoniaque),

est recueilli dans un deuxième ballon de 100 cm<sup>3</sup> identique au précédent. On recueille environ 30 cm<sup>3</sup> de distillat, on acidifie par quelques gouttes d'acide sulfurique à 66 p. cent. On ajoute de l'eau distillée pour avoir environ 50 cm<sup>3</sup> de liquide. Puis on adapte le condensateur et on distille à nouveau. On recueille environ 30 cm<sup>3</sup> de distillat directement dans un ballon jaugé de 50 cm<sup>3</sup>, on porte à 15° et on complète à 30 cm<sup>3</sup> avec de l'eau distillée. Le contenu du ballon est rendu homogène par agitation. Il contient l'alcool contenu dans le 50 cm<sup>3</sup> du premier distillat traités pour purification.

Cette liqueur est alors titrée en suivant le processus précédemment indiqué.

Signalons d'ores et déjà que les résultats obtenus dans les deux dosages, avant et après purification, ne diffèrent pas sensiblement l'un de l'autre. Si on constate une diminution du titre alcoolique après purification, cette diminution porte sur les dixièmes de degrés. Parfois les chiffres obtenus sont les mêmes, ou tellement approchés, que l'on peut dire que le dosage de l'alcool par la méthode directe est largement suffisant.

Nous avons voulu contrôler cette méthode qui permet d'obtenir le titre alcoolique avec un minimum de prise d'essai en déterminant le poids spécifique du distillat. Nous avons opéré ainsi : l'extrait fluide étant à la température de 15°, on prélève 50 cm<sup>3</sup> qui sont versés dans un ballon Pyrex de 150 cm<sup>3</sup>. On ajoute 20 cm<sup>3</sup> d'eau distillée, un peu de pierre ponce, on branche sur un réfrigérant descendant. La distillation s'effectue lentement. Le distillat est recueilli dans un ballon-jauge de 50 cm<sup>3</sup>, lorsqu'il affleure au trait de jauge, on cesse de recueillir et le ballon est plongé dans le bain à 15°. L'équilibre thermique étant atteint, on complète exactement à 50 cm<sup>3</sup>.

Nous remplissons de ce liquide un ballon à densité préalablement taré. Nous pesons. Le ballon à densité est ensuite rincé, puis rempli d'eau distillée à 15°. On pèse à nouveau. Le poids spécifique du liquide alcoolique nous est donné par la formule suivante : soit P1 = le poids du ballon à densité vide.

$$\begin{array}{llll} P2 = & » & » & \text{rempli d'eau distillée.} \\ P = & » & » & \text{rempli du liquide alcoolique.} \end{array}$$

$$\text{Poids spécifique : } = \frac{P - P1}{P2 - P1}$$

Le tableau inscrit au Codex, pages 834-835, nous permet de retrouver le degré alcoolique de l'extrait fluide examiné.

#### RESULTATS OBTENUS

| Extrait fluide       | Poids spécifique | DEGRE ALCOOLIQUE A 15°      |                                        |
|----------------------|------------------|-----------------------------|----------------------------------------|
|                      |                  | Oxydation chromique directe | Oxydation chromique après purification |
| A .....              | 49° 8            | 50° 3                       | 50°                                    |
| B .....              | 50°              | 50° 2                       | 49° 8                                  |
| C .....              | 49° 4            | 49° 56                      | 49° 3                                  |
| V .....              | 28° 2            | 28° 8                       | 28° 4                                  |
| D .....              | 43° 2            | 43° 5                       | 43° 5                                  |
| G .....              | 52° 4            | 52° 8                       | 52° 6                                  |
| R .....              | 34° 5            | 34° 5                       | 34° 5                                  |
| S <sup>1</sup> ..... | 48° 2            | 48° 4                       | 48° 3                                  |
| S <sup>2</sup> ..... | 48° 2            | 48° 4                       | 48° 4                                  |
| S <sup>3</sup> ..... | 46° 5            | 46° 5                       | 46° 5                                  |

#### INDICE D'EAU

Il était permis de penser que la méthode préconisée par Domergue (42), pour l'essai des teintures, pouvait être appliquée pour déterminer une constante caractéristique à l'essai de l'extrait fluide d'hydrastis.

Nous ne pouvions songer opérer sur l'extrait normal, étant donnée sa forte coloration et l'impossibilité absolue d'apercevoir le terme de précipitation par l'eau.

Nous avons pensé qu'il nous suffirait de diluer convenablement l'extrait dans de l'alcool à un titre choisi. Puis d'ajouter l'eau ensuite.

En pratique, cet indice doit être déterminé dans des conditions rigoureuses d'agitation et de température. La vitesse d'addition de l'eau joue également un rôle considérable. Aussi pour avoir autant que possible des résultats comparables, avons-nous fixé ainsi le protocole de l'expérimentation :

4 g. de l'extrait sont dilués à 100 cm<sup>3</sup> avec de l'alcool à 50° à la température de + 15°.

Nous avons choisi : l'alcool à 50°, car nos déterminations du titre alcoolique de l'extrait d'hydrastis préparé par nous, nous ont démontré que le degré d'une telle préparation, correctement effectuée, était sensiblement voisin de ce titre alcoolique.

La dilution étant relativement considérable, son titre alcoolique est toujours très voisin de 50°, même si l'extrait soumis à l'examen possède un titre différent.

(N. B. — Il peut arriver que l'on constate un trouble pendant cette dilution. Ceci est très important et se produit lorsque le titre alcoolique de l'extrait est notablement inférieur à 50°).

Nous plaçons ensuite 5 cm<sup>3</sup> de cette dilution dans un Becher de 50 cm<sup>3</sup> de capacité. Le vase est ensuite porté dans un B. M. à + 15°.

Nous remplissons d'eau distillée à + 15° une burette de Mohr et, après avoir noté le niveau, nous versons à la vitesse de X gouttes-minute cette eau dans le Becher en ayant soin :

- 1° D'agiter constamment à l'aide d'un agitateur ;
- 2° De maintenir la température constante.

L'examen sur fond noir avec un éclairage oblique est celui qui nous permet d'apercevoir le plus commodément l'apparition du trouble.

Nous devons, avant même d'indiquer les résultats obtenus, signaler, malgré tout le faisceau de précautions, l'imprécision de cet examen qui varie pour un même expérimentateur pour deux essais semblable, et à plus forte raison d'un expérimentateur à l'autre.

Les résultats que nous indiquons ici sont établis en prenant la moyenne de plusieurs essais.

Ces résultats nous amènent aux constatations suivantes :

1° Les extraits V et R qui avaient précipité par l'alcool à 50° ont, dans les conditions de l'expérimentation, un indice d'eau identique.

On peut donc conclure, à leur sujet, que ces extraits fluides, riches en matières extractives, mais à degré alcoolique bas, ont été amenés par la dilution dans l'alcool à 50° à fournir des teintures dans lesquelles les principes solubles dans l'alcool à 50° sont au terme de saturation et, par conséquent, précipiteront d'une manière identique par la dilution par l'eau.

2° L'indice d'eau pratiqué dans ces conditions paraît varier en raison inverse de la concentration des extraits en principes extractifs. Mais avec une imprécision telle dans les résultats, que cet indice n'a pratiquement aucune valeur.

Les extraits V—R — ont précipité abondamment pendant la dilution par l'alcool à 50°.

Ces extraits, nous l'avons déterminé, possèdent des titres alcooliques nettement inférieurs à 50°.

Pour ces extraits, l'indice d'eau n'a donc plus de valeur. Cependant, nous avons filtré la dilution et c'est sur le filtrat que nous avons opéré le prélèvement destiné à la détermination de l'indice d'eau.

#### EXTRAITS FLUIDES

| 5 cm <sup>3</sup> de la dilution à<br>4 gr. pour cent cm <sup>3</sup><br>dans l'alcool à 50° . | A   | B   | C   | V   | D   | G   | R   | S <sup>1</sup> | S <sup>2</sup> | S <sup>3</sup> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----------------|----------------|----------------|
| cm <sup>3</sup> d'eau .....                                                                    | 1,9 | 1,2 | 1,4 | 1,5 | 1,3 | 2,3 | 1,5 | 2,5            | 2,4            | 2,2            |

Nous avons essayé de remédier à l'imprécision de cette détermination en établissant un indice diaphanométrique (Rimattei) (43).

Nous avons comparé en lumière monochromatique jaune, obtenue par la lampe à vapeur de sodium, le trouble obtenu dans certaines conditions d'expérimentation à l'aide de nos extraits, au trouble obtenu en opérant d'une manière identique avec une solution titrée d'un produit pur soluble dans l'alcool et précipitable par l'eau.

Nous utilisons un notable excès d'eau de manière à effectuer une précipitation totale.

Nous avons utilisé le colorimètre à double effet et compensation de Leitz, dans lequel la source lumineuse a été remplacée par la lampe à vapeur sodium.

L'étalon choisi nous est donné par le trouble obtenu ainsi :

A l'aide d'anéthol cristallisé et purifié par recristallisation de sa solution dans l'alcool absolu par évaporation spontanée et abaissement de température à 0°, nous préparons une solution à 0 g. 10 d'anéthol et q. s. p. 100 cm<sup>3</sup> d'alcool à 95°.

Nous prélevons à la pipette de précision 5 cm<sup>3</sup> de cette solution et les portons dans un Becher cylindrique de 50 cm<sup>3</sup>. Ce

Becher cylindrique peut recevoir un agitateur à croisillons en verre tournant à 150 tours-minute.

Le Becher est placé dans un récipient contenant de l'eau à  $+ 15^{\circ}$ .

L'agitateur étant mis en marche, nous faisons tomber à l'aide d'une burette graduée  $25 \text{ cm}^3$  d'eau distillée à  $+ 15^{\circ}$  à la vitesse d'une goutte-seconde.

Le trouble obtenu est considéré comme trouble étalon. On ne peut songer à conserver un pareil étalon.

Donc, pour éviter la préparation à chaque mesure d'un pareil étalon, nous avons demandé à la Maison Leitz de fournir des étalons d'opacité en verre.

Nous avons déterminé leur correspondance par rapport à la solution trouble étalon, et avons trouvé, pour l'un d'entre eux, que son opacité correspondait à une épaisseur de 30 divisions de la solution trouble étalon.

Nous avons donc effectué toutes nos mesures à l'aide de cet étalon standard.

La solution trouble à déterminer est préparée en opérant exactement comme pour l'obtention du trouble anéthol étalon, mais en utilisant ici  $5 \text{ cm}^3$  de la dilution précédemment obtenue de l'extrait fluide dans l'alcool à  $50^{\circ}$ .

Pour équilibrer le système optique, nous plaçons à côté de l'étalon standard une cuve contenant de l'eau distillée et à côté de la solution trouble à examiner une cuve contenant la solution obtenue en mélangeant  $5 \text{ cm}^3$  de la même dilution de l'extrait en expérimentation avec  $25 \text{ cm}^3$  d'alcool à  $50^{\circ}$ .

L'appareil de Leitz permet, par une seule manœuvre, de déplacer synchroniquement les deux plongeurs qui vont l'un dans la solution trouble et l'autre dans la solution compensatrice.

Cette manœuvre nous permet d'obtenir l'égalité lumineuse des deux plages de l'oculaire.

La détermination doit être effectuée dès que la solution trouble a été obtenue. La précision dans la mesure n'est possible que pendant un temps très court.

Ensuite, les particules précipitées par l'eau gagnant les parties profondes de la cuve l'opacité augmente constamment et progressivement.

Cette réserve faite, voici les résultats :

| Extrait              | Etalon Standard<br>(soit 30 de solution<br>Anéthol) | Epaisseur<br>de la solution<br>d'extrait | Correspondance<br>en anéthol 100 |
|----------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------|
| A .....              | 30                                                  | 44                                       | 68                               |
| B .....              | »                                                   | 30                                       | 100                              |
| C .....              | »                                                   | 41,5                                     | 72                               |
| V .....              | »                                                   | 6,8                                      | 441                              |
| D .....              | »                                                   | 13,2                                     | 227                              |
| G .....              | »                                                   | 33                                       | 99                               |
| R .....              | »                                                   | 6,8                                      | 441                              |
| S <sup>1</sup> ..... | »                                                   | 76                                       | 39                               |
| S <sup>2</sup> ..... | »                                                   | 74,2                                     | 40                               |
| S <sup>3</sup> ..... | »                                                   | 82,5                                     | 36                               |

Cet indice diaphanométrique fait apparaître des différences considérables entre les divers extraits étudiés.

Nous pouvons encore conclure que l'indice de trouble varie avec la concentration de l'extrait fluide en principes extractifs.

Mais ici l'indice est fortement influencé par cette concentration et des différences énormes sont constatées (36 à 441).

Les extraits type A, B, C ont un indice qui varie entre 70 et 100. Les extraits commerciaux (sauf G) s'éloignent notablement en plus ou en moins de ces limites.

Cet indice pourrait donc être pris en considération, mais une anomalie (extrait D) vient déséquilibrer le résultat de ces recherches.

Cet extrait D, très riche en principes extractifs, plus riche même que l'extrait V, a un indice de trouble qui ne correspond pas à une telle concentration.

Nous sommes donc amené à supposer que ces indices (indice d'eau et indice de trouble) sont bien sous la dépendance de la teneur des extraits en principes extractifs.

Mais que ces principes extractifs complexes sont formés de substances solubles dans l'alcool (à 50° environ), de substances solubles dans l'eau et de substances indifférentes solubles dans l'eau et dans l'alcool (50° environ).

Le rapport de ces substances entre elles étant variable, selon la drogue utilisée et à plus forte raison avec le degré de l'alcool mis en œuvre.

## INDICES DE PRECIPITATION. EAU ET ALCOOL

En conséquence de la conclusion qui précède, nous avons déterminé pour nos extraits d'une part, l'extractif précipitable par l'eau et, d'autre part, l'extractif précipitable par l'alcool fort.

Nous appellerons **indice de précipitation par l'eau** le pourcentage de matières extractives précipitables par l'eau distillée dans les conditions suivantes :

2 g. d'extrait fluide sont pesés directement dans un tube à centrifugation contenant déjà 15 cm<sup>3</sup> d'eau distillée neutre (pH7) et à la température de + 15°. On agite et on centrifuge.

Le précipité est lavé par centrifugation deux fois avec 15 cm<sup>3</sup> d'eau distillée neutre séché et pesé. On rapporte à 100 g. d'extrait.

Nous appellerons **indice de précipitation par l'alcool** le pourcentage de matières extractives précipitables par l'alcool à 95° dans les conditions suivantes :

2 g. d'extrait fluide sont pesés directement dans un tube à centrifugation contenant déjà 15 cm<sup>3</sup> d'alcool à 95° neutre à la température de 15°. On agite et on centrifuge.

Le précipité est lavé par centrifugation deux fois avec 15 cm<sup>3</sup> d'alcool à 95°, séché et pesé. On rapporte à 100 g. d'extrait.

### EXTRAITS

|                                       | A    | B    | C    | V    | D    | G    | R    | S <sup>1</sup> | S <sup>2</sup> | S <sup>3</sup> |
|---------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|----------------|----------------|----------------|
| Précipitable par l'eau.               | 1,50 | 1,65 | 1,05 | 2,15 | 1,45 | 0,85 | 2,25 | 0,55           | 0,50           | 0,75           |
| Précipitable par l'alcool à 95° ..... | 2,60 | 4,05 | 3,40 | 9,45 | 3,05 | 1,50 | 7,50 | 1,95           | 1,65           | 2,25           |

Ces deux indices nous permettent de constater : que les extraits V et R, pour lesquels on obtient les mêmes constantes pour l'indice d'eau et l'indice diaphanométrique, se comportent ici d'une façon très approchée.

Au contraire, l'extrait D ne donne que peu de précipité comparativement à sa teneur en extrait sec. Il est donc très riche en substances que nous pourrions qualifier d'indifférentes.

## TENSION SUPERFICIELLE

Etant données les variations importantes constatées dans la constitution de nos extraits, principalement en ce qui touche au degré alcoolique qui varie de 28° à 52°, et aux matériaux solubilisés, nous pensions que la tension superficielle pourrait être notablement influencée.

Nous avons donc déterminé cette mesure en nous servant de l'appareil décrit par M. Lemonde (44) et Lemonde et Chevallier (45), construit par la maison P. Couprie, de Lyon.

Nous avons opéré à la température de 20° directement sur nos extraits. Nous avons également déterminé la tension superficielle de deux alcools, l'un à 28°, l'autre à 50°.

L'examen des résultats obtenus nous démontre que la tension superficielle de l'alcool est notablement abaissée par les éléments dissous, et qu'elle se fixe autour de 29 dynes cm, quelle que soit la quantité de ces éléments en solution.

Deux extraits (V et R) seulement ont une tension superficielle très légèrement supérieure de 30 dynes cm. Si l'on considère leurs degrés alcooliques, on constate que, dans ces cas, ils sont considérablement plus faibles (de 15° à 20°) et la tension propre de l'alcool intervient alors pour élever celle de l'extrait.

| A  | B     | C  | V  | G     | D  | R  | S <sup>1</sup> | S <sup>2</sup> | S <sup>3</sup> | Alcool<br>50° | Alcool<br>28° |
|----|-------|----|----|-------|----|----|----------------|----------------|----------------|---------------|---------------|
| 29 | 29,25 | 29 | 30 | 29,25 | 29 | 30 | 29             | 29             | 29             | 31,7          | 38,2          |

Il convient donc de retenir seulement ce fait, que la tension superficielle de l'extrait fluide d'hydrastis est comprise entre 29 et 30 dynes cm à la température de 20°.

## VISCOSITE

On sait que, quand un liquide s'écoule par un tube de grande longueur, sa vitesse de sortie n'est plus déterminée par les lois simples de l'hydro-dynamique par suite du frottement des molécules à l'intérieur du liquide. La loi de Poiseuille régit le phénomène et s'exprime ainsi : « Le débit d'un tube est proportionnel à la pression du liquide, à la quatrième puissance du rayon du tube et, inversement, proportionnel à sa longueur ».

Le coefficient de frottement, ou coefficient de frottement intérieur « n », semblable au coefficient de frottement, s'exprime de

même en unités C. G. S. (dynes par  $\text{cm}^2$ ). Ce coefficient est une constante caractéristique d'un corps donné à une température donnée.

L'unité de viscosité est le poise.

Pour nos mesures, nous avons utilisé l'écoulement en tube fin, on compare les viscosités à déterminer à celle d'un liquide type. Si on opère sur des volumes identiques, on a :

$$n = k. d. t.$$

ou  $k$  est la constante de l'appareil pour le liquide type,  $d$  la densité du liquide étudié, et  $t$  le temps d'écoulement de ce liquide.

Il est très important d'avoir une température fixe, car des écarts faibles de température amènent des variations très notables de la viscosité ; on doit donc attendre un temps suffisant pour permettre l'égalisation des températures.

Nous disposons, pour nos mesures, d'un viscosimètre de Baumé, appareil très simple composé de trois parties :

1° Un thermostat, réalisé par une jaquette avec réfrigérant ascendant, où l'on peut maintenir un corps à l'ébullition pour opérer à la température constante de ce point d'ébullition. Dans nos mesures à  $+ 5^\circ$  et  $+ 15^\circ$ , nous utilisons simplement de l'eau dont la température était vérifiée à l'aide d'un thermomètre placé dans la jaquette thermostatique A  $+ 35^\circ$ , nous utilisons un éther dont le point d'ébullition correspondait à cette température.

2° Un tube laboratoire dans lequel nous plaçons l'extrait. Il est constitué par un tube à essais court, mais d'un diamètre important, afin que de faibles variations dans le volume du liquide contenu ne retentissent pratiquement pas sur la hauteur de la surface libre de ce liquide.

Ce tube laboratoire est placé dans la capacité intérieure de la jaquette thermostatique et repose sur une couche de mercure destinée à éviter les chocs pendant les manipulations et à assurer la conductibilité calorifique entre la paroi intérieure de la jaquette et le tube laboratoire contenant l'extrait.

3° Un tube viscosimètre étalonné portant trois repères.

Ce tube doit être maintenu parfaitement vertical et doit plonger jusqu'au niveau du repère inférieur dans l'extrait contenu dans le tube laboratoire.

4° Une soufflerie permet, par suppression, la montée du liquide dans le tube viscosimétrique jusqu'au dessus du repère supérieur.

5° Un chronographe au  $1/5$  de seconde sert à mesurer le temps

d'écoulement entre le moment où, l'appareil étant libéré de la soufflerie, le ménisque du liquide qui s'écoule, passe devant le repère supérieur et le moment où il passe devant le repère intermédiaire situé en dessous du renflement de ce tube viscosimétrique étalonné.

Ces tubes viscosimétriques étalons ont été, avant chaque détermination, lavés successivement : au bichromate sulfurique, à l'eau distillée, à l'alcool à 95° et enfin à l'éther. L'évaporation de l'éther est obtenue par le passage d'un courant d'air créé à l'aide de la soufflerie de l'appareil de Baumé.

Nous avons donc étudié, à l'aide de cet appareil, la viscosité de nos extraits pour les températures de + 35° + 15° + 5°.

Nous avons ensuite déterminé la viscosité de l'alcool à 50° et à 28°, toujours aux mêmes températures, de manière à essayer d'interpréter les résultats obtenus.

Le titre de 50° est le titre moyen normal des extraits fluides d'hydrastis.

Le titre de 28° est le titre alcoolique le plus bas que nous avons retrouvé dans nos essais.

Le tableau suivant nous donne un exemple de la détermination de la viscosité pour deux extraits de titre alcoolique 50° et 28°.

EXEMPLES DE DETERMINATION DE LA VISCOSITE ABSOLUE

| Extrait                | Température | Constante K du tube viscosimétrique | Temps    | Densité de l'extrait | Poise   |
|------------------------|-------------|-------------------------------------|----------|----------------------|---------|
| B<br>50°               | + 5°        | 0,00142                             | 55" 1/5  | 1,005 1              | 0,07871 |
|                        | + 15°       | 0,000793                            | 73" 1/5  | 0,999 2              | 0,05808 |
|                        | + 35°       | 0,000793                            | 56" 3/5  | 0,985 8              | 0,04405 |
| V<br>28° 2             | + 5°        | 0,000793                            | 133" 2/5 | 1,036 6              | 0,10916 |
|                        | + 15°       | 0,000793                            | 109"     | 1,030 1              | 0,08903 |
|                        | + 35°       | 0,0001995                           | 219" 2/5 | 1,018 0              | 0,04452 |
| Viscosité du solvant : |             |                                     |          |                      |         |
| Alcool à 28°           | + 15°       | 0,000305                            | 113"     | 0,9343               | 0,03220 |
| Alcool à 50°           | + 15°       | 0,000793                            | 34"      | 0,9677               | 0,02009 |

Augmentation de la viscosité due aux éléments dissous : Viscosité de l'extrait à + 15° moins viscosité propre à l'alcool à la même température.

Extrait B à + 15° = 0,05808 — 0,02609 = 0,03199

Extrait V à + 15° = 0,08903 — 0,03220 = 0,05683

**VISCOSITE DES EXTRAITS EN POISE**  
(DYNE - SECONDE - CENTIMÈTRE CARRÉ)

| EXTRAIT              | + 5°    | + 15°   | + 35°   |
|----------------------|---------|---------|---------|
| A .....              | 0,07121 | 0,06510 | 0,03361 |
| B .....              | 0,07871 | 0,05808 | 0,04405 |
| C .....              | 0,08575 | 0,07960 | 0,03465 |
| V .....              | 0,10916 | 0,08903 | 0,04452 |
| D .....              | 0,11114 | 0,09210 | 0,04817 |
| G .....              | 0,06643 | 0,05689 | 0,03094 |
| R .....              | 0,22269 | 0,15821 | 0,07691 |
| S <sup>1</sup> ..... | 0,06944 | 0,06026 | 0,02820 |
| S <sup>2</sup> ..... | 0,07023 | 0,06097 | 0,02864 |
| S <sup>3</sup> ..... | 0,08804 | 0,06282 | 0,03748 |

De ces déterminations nous pouvons faire les remarques suivantes :

1° La viscosité moyenne d'un extrait fluide d'hydrastis dont le titre alcoolique est compris entre 48° et 52°, peut varier entre 0,06 poise et 0,08 poise à 15° ;

2° Des viscosités supérieures à 0,08 sont constatées pour les extraits dont le titre alcoolique n'est pas compris dans les limites que nous venons d'indiquer ;

3° La viscosité augmente si le degré alcoolique est notablement inférieur à 48° ;

4° Cette augmentation ne varie pas en raison de la variation du titre alcoolique.

|         |                            | Viscosité   | Extrait sec |
|---------|----------------------------|-------------|-------------|
| à + 15° | V titre alcoolique + 28° 2 | 0,089 poise | 27,30       |
| à + 15° | D titre alcoolique + 43° 2 | 0,092 poise | 28,66       |
| à + 15° | R titre alcoolique + 34° 5 | 0,158 poise | 32,40       |

Mais varie proportionnellement à la quantité de substances dissoutes ;

5° Pour un même extrait, nous observons une chute d'autant plus rapide de la viscosité que la température est plus élevée.

Le principe de la détermination de la viscosité n'est inscrit que dans les pharmacopées américaine, anglaise et française (1937).

Cette détermination sert alors pour l'étude des huiles fixes et des huiles essentielles.

## FLUORESCENCE EN LUMIERE DE WOOD

Comme un grand nombre de travaux antérieurs l'ont démontré, l'hydrastine éclairée par une lumière sensiblement monochromatique de longueur d'onde 3650 Å° émet une lumière de fluorescence bleue intense. Fabre (46), W. Danckworth et E. Piau (47), Bayle et Fabre (48), Audant (49), G. Bernheim et M. Guyot (50).

La berbérine examinée dans les mêmes conditions émet une lumière de fluorescence jaune (Golonsko) (51).

Si l'on ajoute à une solution alcoolique d'hydrastine de la Berbérine, on constate que l'intensité de la fluorescence diminue fortement (Bayle et Fabre).

Il a été également établi que la fluorescence de l'hydrastine, base en solution alcoolique ou chloroformique, est verte, alors que la solution alcoolique de chlorhydrate d'hydrastine présente une fluorescence bleue (Bayle et Fabre).

Nous avons examiné l'extrait fluide d'hydrastis en lumière de Wood, et nous avons déterminé d'abord qualitativement, puis quantitativement la lumière de fluorescence émise. Si nous imprégnons des bandelettes de papier filtre par nos extraits d'hydrastis, et si nous les examinons en lumière de Wood, nous constatons toujours, quel que soit l'extrait utilisé, une fluorescence bleu vert intense.

Nous avons voulu ensuite déterminer l'intensité de cette lumière de fluorescence pour des extraits dont nous connaissons les teneurs en hydrastine et en berbérine.

Ces déterminations ont été effectuées dans le laboratoire du professeur Canals, de la Faculté de Pharmacie de Montpellier, en suivant la technique de P. Peyrot (52).

## Appareil

Le schéma de l'appareil est le suivant :

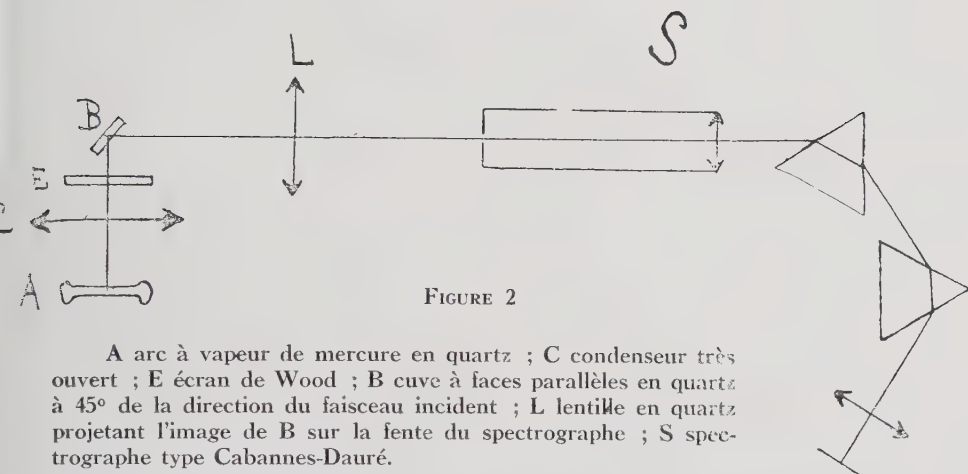


FIGURE 2

A arc à vapeur de mercure en quartz ; C condenseur très ouvert ; E écran de Wood ; B cuve à faces parallèles en quartz à 45° de la direction du faisceau incident ; L lentille en quartz projetant l'image de B sur la fente du spectrographe ; S spectrographe type Cabannes-Dauré.

L'excitation correspond à une lumière sensiblement monochromatique de longueur d'onde 3650 Å°.

Les plaques utilisées sont des superfulgur (Guilleminot). Le liquide dont on veut déterminer le spectre est placé dans la cuve de quartz B.

L'étendue des spectres est déterminée avec l'arc au fer comme référence.

L'intensité de la lumière de fluorescence dans une région spectrale donnée, est déterminée approximativement par le procédé suivant : On utilise une solution étalon de sulfate neutre de quinine (1 g. dissous dans 100 cm<sup>3</sup> de SO<sup>4</sup> H<sup>2</sup> N/100). On fait sur la même plaque le spectre du corps à étudier et des spectres de l'étalon avec des temps de pose croissants. Après développement, on cherche le temps de pose  $t$  du spectre étalon qui présente la même opacité que le spectre du corps à étudier posé un temps  $t_1$ , soit  $I$  l'intensité de la lumière émise par l'étalon ; soit  $I_1$  l'intensité de la lumière émise par le corps. Si on applique la loi de Schwarzschild, on a

$$I t^n = I_1 t_1^n$$

$n'$  étant un exposant voisin de 0,9, d'où

$$\frac{I_1}{I} = \left( \frac{t}{t_1} \right)^n$$

Plus simplement, en première approximation, on peut appliquer la loi approchée de Busen, pour laquelle  $n=1$ , et il vient

$$\frac{I_1}{I} = \frac{t}{t_1}$$

On comparera ainsi l'intensité  $I_1$  à l'intensité  $I$  de l'étalon par la mesure de  $t_1$  et de  $t$ .

### Résultats

Tous les spectres des solutions d'extraits s'étendent sensiblement de 420 m/μ à 550 m/μ avec un maximum dans la région de 475 m/μ.

Le spectre de la solution d'hydrastine au 1/1000° présente la même étendue et un maximum dans la même région. La solution d'hydrastine au 1/1000° + berbérine au 5/1000° ne présente pas de fluorescence, d'où le rôle inhibiteur de la berbérine.

### RESULTATS

Intensités approximatives

| ORIGINE                        | $\frac{I_1}{I}$            |
|--------------------------------|----------------------------|
| Extrait S au $\frac{1}{200}$   | $\frac{90}{1800} = 0,05$   |
| Extrait G au $\frac{1}{200}$   | $\frac{60}{3600} = 0,016$  |
| Extrait V au $\frac{1}{200}$   | $\frac{32}{1800} = 0,018$  |
| Extrait D au $\frac{1}{200}$   | $\frac{40}{1800} = 0,022$  |
| Extrait type A $\frac{1}{200}$ | $\frac{32}{1800} = 0,018$  |
| Extrait type B $\frac{1}{200}$ | $\frac{100}{3600} = 0,027$ |
| Hydrastine au $\frac{1}{1000}$ | $\frac{40}{600} = 0,067$   |

Comme les travaux précédemment indiqués nous le laissaient prévoir, la détermination de l'intensité de fluorescence sur l'extrait

fluide d'hydrastis ne peut pas permettre d'envisager un dosage de l'hydrastine par ce procédé.

Cependant, comme nous n'avons jamais rencontré un extrait d'hydrastis dans lequel la proportion de berbérine par rapport à l'hydrastine soit supérieure à 5 pour 1, le spectre de fluorescence est toujours possible et constitue un caractère typique de cette préparation galénique.

## INDICE DE REFRACTION

Nous avons déterminé cet indice à l'aide du réfractomètre de Abbe. Nos déterminations ont été effectuées à  $+ 15^{\circ}$ .

Nos résultats sont les suivants :

| A      | B      | C      | V      | D      | G      | R      | S <sup>1</sup> | S <sup>2</sup> | S <sup>3</sup> |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----------------|----------------|----------------|
| 1.4040 | 1.3930 | 1.3985 | 1.4060 | 1.4070 | 1.3935 | 1.4000 | 1.3840         | 1.3840         | 1.3886         |

Cette constante physique ne permet aucune interprétation. Tout au plus, pouvons-nous indiquer que l'indice de réfraction varie de 1.393 à 1.404 pour les extraits fluides préparés par nous.

Les extraits commerciaux varient de 1.384 à 1.407. L'ensemble analytique permet cependant de dire que les extraits S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub> dont les indices sont les plus bas, sont également les moins riches en extractif.

## CONDUCTIVITE

Nous avons voulu voir si l'étude de la conductivité de nos extraits fluides pouvait nous donner des indications intéressantes.

Nous avons utilisé la méthode classique de Kohlrausch avec un ohmmètre de Chauvin et Arnoux, adapté par le Professeur Rimattei pour ses recherches sur la conductivité électrique des sérums (53).

Nos déterminations ont été faites sur l'extrait en nature, non dilué.

Nous avons opéré à  $+ 15^{\circ}$ .

Voici les résultats obtenus :

| Extrait          | Conductivité en mhos cm/cm <sup>2</sup> |                  |
|------------------|-----------------------------------------|------------------|
| Type A           | 1,12                                    | 10 <sup>-3</sup> |
| » B              | 0,825                                   | 10 <sup>-3</sup> |
| » C              | 0,949                                   | 10 <sup>-3</sup> |
| » V              | 1,12                                    | 10 <sup>-3</sup> |
| » D              | 0,645                                   | 10 <sup>-3</sup> |
| » G              | 0,75                                    | 10 <sup>-3</sup> |
| » R              | 0,949                                   | 10 <sup>-3</sup> |
| » S <sup>1</sup> | 1,11                                    | 10 <sup>-3</sup> |
| » S <sup>2</sup> | 1,21                                    | 10 <sup>-3</sup> |
| » S <sup>3</sup> | 1,39                                    | 10 <sup>-3</sup> |
| Alcool à 28°     | 1,08                                    | 10 <sup>-6</sup> |
| » à 50°          | 3,30                                    | 10 <sup>-6</sup> |

L'examen de ces résultats et leur comparaison avec les éléments constitutifs de chacun de ces extraits (degré alcoolique, extrait sec, cendres, etc.) ne permettent pas leur interprétation.

# ESSAIS CHIMIQUES



## DETERMINATION DE L'AZOTE KJEDHALLISABLE

---

Nous avons essayé de traiter par la méthode de Kjeldahl nos extraits fluides en vue de doser l'azote kjeldhallisable.

Nous avons opéré en présence d'un catalyseur formé par un mélange en parties égales de sulfate de cuivre et de sulfate de potasse, selon la technique classique.

Le titrage ultérieur nous démontre que, dans cette préparation galénique, il n'y a pas d'azote kjeldhallisable.

Nous avons alors opéré de la même façon sur de l'hydrastine et de la berbérine ; ici encore, ces alcaloïdes, dans ces conditions, ne libèrent pas leur azote ; en conséquence, nous nous trouvons là en présence d'un fait qui est intéressant à connaître et qui peut servir justement de caractéristique à l'extrait fluide d'hydrastis.

## INDICES D'OXYDABILITE

Nous avons réuni dans ce chapitre l'étude de l'action de l'iode, du permanganate de potasse et du bichromate de potasse sur les extraits d'hydrastis.

Les travaux de Morvillez et de ses collaborateurs Meesemaecker (54), Leclercq (55), Danjou (56), indiquent les définitions des indices d'iode et de permanganate et annoncent les résultats obtenus. De ces résultats, ces auteurs fixent des constantes limites pour cette préparation galénique.

Danjou, de plus, appliquant la méthode d'oxydation chromique utilisée déjà depuis longtemps par Nicloux (34), Cordebar (57), Carton (58), Polonowsky et ses élèves Lespagnol (59-60), définit ce qu'il faut entendre par indice chromique et fixe également des constantes limites.

Nous avons repris cette étude et l'avons expérimentée sur nos extraits fluides et signalons, d'ores et déjà, que nos résultats ne concordent nullement avec ceux indiqués par cet auteur.

## Danjou définit l'indice d'iode d'un extrait fluide :

« La quantité d'iode fixée par 1 cm<sup>3</sup> d'extrait, dans les conditions expérimentales énoncées ci-dessous et exprimée en dixième de cm<sup>3</sup> de liqueur centinormale ».

La technique est la suivante : « introduire dans un flacon de 125 cm<sup>3</sup> à bouchage émeri, 1 cm<sup>3</sup> d'extrait fluide filtré, ajouter 20 cm<sup>3</sup> d'eau distillée et 1 cm<sup>3</sup> d'acide acétique. Agiter et verser 10 cm<sup>3</sup> de liqueur d'iode N/20. Abandonner le tout à l'obscurité, à une température voisine de 20°.

« Après une heure de contact, ajouter quelques gouttes d'empoî d'amidon fraîchement préparé et, à l'aide d'une burette graduée, verser rapidement une solution d'hyposulfite de soude N/20 jusqu'à disparition complète de la teinte bleue, c'est-à-dire lorsqu'on a dans la liqueur un excès d'hyposulfite. Noter le chiffre obtenu.

« A l'aide d'une autre burette graduée, ajouter goutte à goutte une liqueur titrée d'iode N/20 jusqu'à réapparition de la coloration bleue.

« La différence entre la quantité totale d'iode et la quantité d'hyposulfite donne la quantité d'iode utilisée.

« Nous exprimons ce résultat conformément à la définition adoptée ».

Danjou indique que cet indice d'iode doit être compris entre 165 et 200.

Nous avons expérimenté en suivant rigoureusement cette technique et nos résultats varient de 225 à 450.

| A   | B   | C   | V   | D   | G   | R   | S <sup>1</sup> | S <sup>2</sup> | S <sup>3</sup> |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----------------|----------------|----------------|
| 225 | 450 | 300 | 425 | 450 | 350 | 400 | 300            | 300            | 275            |

Pour les indices de permanganate (Thoms) et de chrome, Danjou opère sur l'extrait préalablement débarrassé de l'alcool. Il prépare ainsi sa solution d'essai :

« Nous prélevons dans une capsule 1 cm<sup>3</sup> de l'extrait étudié, nous y ajoutons 20 cm<sup>3</sup> d'eau distillée et nous portons le tout au B. M. jusqu'à réduction à 10 cm<sup>3</sup>.

« Cette opération terminée, nous versons le résidu d'évaporation dans un ballon jaugé de 100 cm<sup>3</sup>. A plusieurs reprises nous rinçons la capsule avec quelques centimètres cubes d'eau distillée que nous versons dans le ballon.

« Le volume est ensuite complété jusqu'au trait 100 avec de l'eau distillée.

« Nous obtenons ainsi une dilution aqueuse au 1/100 de l'extrait en expérience ».

*L'indice de chrome* se détermine selon le procédé de Polonowsky-Lespagnol, en oxydant au B. M. bouillant pendant une heure 1 cm<sup>3</sup> de la précédente solution par 5 cm<sup>3</sup> de solution sulfochromique titrée N/10 et en titrant l'acide chromique non réduit

par le dégagement d'iode qu'il produit en agissant sur de l'iodure de potassium.

Un essai témoin utilisant 1 cm<sup>3</sup> d'eau distillée donne la quantité maxima d'iode libérée.

La différence entre les deux titrages exprimés en centimètres cubes d'hyposulfite de soude N/20 et multipliée par 100, donne l'indice de chrome total, qui correspond donc à la quantité de bichromate de potassium consommé pour oxyder dans les conditions requises 1 cm<sup>3</sup> d'extrait fluide.

### *Les indices de permanganates :*

Danjou les définit ainsi : nombre de centimètres cubes de solution de MnO<sup>4</sup>K N/10 nécessaires à l'oxydation de 1 cm<sup>3</sup> d'extrait fluide.

Il se déterminent sur 1 cm<sup>3</sup> de la solution d'essai précédente, soit en milieu acide, soit en milieu alcalin.

En milieu acide, on utilise : 1 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique et 10 cm<sup>3</sup> de MnO<sup>4</sup>K N/10. On porte au B. M. bouillant 10 minutes.

En milieu alcalin, on utilise : 1 cm<sup>3</sup> de lessive de soude diluée au 1/5<sup>e</sup> et 10 cm<sup>3</sup> de MnO<sup>4</sup>K N/10.

On porte au B. M. bouillant 60 minutes.

Pour chaque essai, on utilise un témoin à l'eau distillée. On titre par le sulfate ferroso-ferrique et retour au MnO<sup>4</sup>K N/10.

Danjou obtient, pour les extraits d'hydrastis, les chiffres limites suivants :

Indice chromique : de 190 à 350 ;

Indice de MnO<sup>4</sup>K acide : 545 à 575 ;

Indice de MnO<sup>4</sup>K alcalin : 385 à 405 ;

Dans les mêmes conditions, nos résultats sont :

Indice chromique : de 111 à 896 ;

Indice de MnO<sup>4</sup>K acide : de 185 à 443 ;

Indice de MnO<sup>4</sup>K alcalin : de 216 à 443.

|                                  | A   | B   | C   | V   | D   | G   | R   | S <sup>1</sup> | S <sup>2</sup> | S <sup>3</sup> |
|----------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----------------|----------------|----------------|
| Indice chromique .....           | 544 | 575 | 477 | 896 | 770 | 539 | 750 | 411            | 413            | 439            |
| MnO <sup>4</sup> K acide .....   | 287 | 313 | 264 | 443 | 370 | 269 | 384 | 186            | 214            | 384            |
| MnO <sup>4</sup> K alcalin ..... | 297 | 363 | 325 | 443 | 360 | 280 | 375 | 217            | 300            | 275            |

Nous pouvons conclure que ces indices sont inconstants et ne méritent pas d'être retenus comme test dans l'essai d'un extrait fluide.

Tout au plus, nous renseigneront-ils sur la teneur plus ou moins grande de cet extrait en extractif, ces indices augmentant avec celui-ci.

Mais alors, il est beaucoup plus aisé de pratiquer d'autres déterminations déjà signalées.

## ACIDITE

Nous savons actuellement l'importance des points iso-électriques dans la précipitation ou la solubilisation de certains corps : Matières protéiques, insuline, par exemple.

Cette importante question semble devoir jouer un grand rôle dans la constitution des extraits. Etant donnée la complexité des éléments constitutifs des végétaux, il nous semble que la solubilisation de certains constituants ou, au contraire, leur non solubilisation, devait dépendre non seulement du véhicule employé et des conditions de son utilisation, mais également du pH de cet agent. De plus, dans le cas présent, où le véhicule est l'alcool à 70°, dont le pH était au moment de l'emploi très voisin de pH 7, nous pouvons penser que ces mêmes éléments constitutifs du végétal, solubles et plus ou moins ionisables, vont communiquer à la forme galénique une nouvelle valeur d'ionisation.

Nous avons donc déterminé pour nos extraits leur pH respectif.

Pour cela, n'ayant pas à notre disposition de potentiomètre électrique, nous avons dû, pour pouvoir utiliser les réactifs indicateurs de pH et l'appareil de Hellige, envisager la décoloration de nos extraits.

Le noir diamant adsorbe aisément la matière colorante. Un essai préliminaire nous a démontré que le noir utilisé élevait très légèrement le pH de l'eau distillée.

En traitant au B. M. bouillant pendant 5 minutes 2 grammes de noir diamant par 25 cm<sup>3</sup> d'eau distillée à pH = 7, laissant refroidir et filtrant, le liquide présentait un pH de 7,2.

Par tâtonnement, nous avons établi que, en opérant dans les mêmes conditions, il fallait utiliser une eau distillée à pH 6,85 pour obtenir un filtrat à pH = 7.

Pour décolorer nos extraits, nous opérons ainsi :

Nous mesurons dans un tout petit Becher 5 cm<sup>3</sup> d'extrait, nous ajoutons 2 grammes de noir diamant et nous chassons l'alcool au

B. M. Puis le résidu pâteux est repris par 25 cm<sup>3</sup> d'eau distillée à pH 6,85. Nous laissons encore 5 minutes au B. M. bouillant en agitant soigneusement. Après avoir laissé refroidir, nous filtrons. Le filtrat est absolument incolore.

Dans la cuve de l'appareil de Hellige, nous plaçons selon la technique indiquée par l'auteur :

10 cm<sup>3</sup> du filtrat, 1/2 cm<sup>3</sup> d'indicateur au rouge de méthyle.

Nous comparons la teinte obtenue avec la gamme du disque étalon correspondant.

#### RÉSULTATS :

| Extrait : A | B   | C   | V   | G   | D   | R   | S <sup>1</sup> | S <sup>2</sup> | S <sup>3</sup> |
|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----------------|----------------|----------------|
| pH : 5,7    | 5,6 | 5,8 | 5,6 | 5,6 | 5,8 | 5,6 | 5,6            | 6,0            | 5,8            |

Le pH de ces extraits varie donc fort peu et, dans les conditions de l'expérimentation, il semble que ces préparations doivent posséder des substances tampons.

## PREPARATION D'EXTRAITS TAMPONNES

Nous avons alors envisagé non plus l'extraction par un solvant neutre qui prend l'équilibre ionique qui lui est communiqué par les substances tampons du végétal lui-même, mais l'utilisation d'un véhicule extractif déjà suffisamment tamponné pour permettre l'extraction fractionnée des divers constituants du végétal à un pH déterminé.

Cette méthode d'investigation générale nous l'avons expérimentée sur l'hydrastis.

Il nous fallait utiliser, ceci dans un but de pratique pharmaceutique, des sels et des acides dont les actions pharmacodynamiques ne soient pas un obstacle à l'utilisation ultérieure de la préparation obtenue.

Nous avons arrêté notre choix sur le phosphate dissodique officinal et l'acide citrique officinal (P. Rona) (61) qui, en aucun cas, ne peuvent avoir une action thérapeutique néfaste et dont le mélange judicieux de leurs solutions respectives permet d'obtenir des solutions tamponnées dont le pH variera de 2,2 à 8, selon la proportion de chacune d'elles.

| pH  | Phosphate disodique<br>cristallisé<br>m/5 | Acide citrique cristallisé<br>m/10 |
|-----|-------------------------------------------|------------------------------------|
| 2,2 | 0,40                                      | 19,60                              |
| 2,4 | 1,24                                      | 18,76                              |
| 2,6 | 2,18                                      | 17,82                              |
| 2,8 | 3,17                                      | 16,83                              |
| 3   | 4,11                                      | 15,89                              |
| 3,2 | 4,94                                      | 15,06                              |
| 3,4 | 5,70                                      | 14,30                              |
| 3,6 | 6,44                                      | 13,56                              |
| 3,8 | 7,10                                      | 12,90                              |
| 4   | 7,70                                      | 12,29                              |
| 4,2 | 8,28                                      | 11,72                              |
| 4,4 | 8,82                                      | 11,18                              |
| 4,6 | 9,38                                      | 10,63                              |
| 4,8 | 9,86                                      | 10,14                              |
| 5   | 10,30                                     | 9,70                               |
| 5,2 | 10,72                                     | 9,28                               |
| 5,4 | 11,15                                     | 8,85                               |
| 5,6 | 11,60                                     | 8,40                               |
| 5,8 | 12,09                                     | 7,91                               |
| 6   | 12,63                                     | 7,37                               |
| 6,2 | 13,22                                     | 6,78                               |
| 6,4 | 13,85                                     | 6,15                               |
| 6,6 | 14,5                                      | 5,45                               |
| 6,8 | 15,45                                     | 4,55                               |
| 7   | 16,47                                     | 3,53                               |
| 7,2 | 17,38                                     | 2,61                               |
| 7,4 | 18,17                                     | 1,83                               |
| 7,6 | 18,73                                     | 1,27                               |
| 7,8 | 19,15                                     | 0,85                               |
| 8   | 19,45                                     | 0,55                               |

| pH    | Citrat | Hcl  |
|-------|--------|------|
| 1,173 | 1 cc   | 9 cc |
| 1,41  | 2 cc   | 8 cc |
| 1,92  | 3 cc   | 7 cc |

| pH    | Citrat | Na OH |
|-------|--------|-------|
| 9,05  | 3 cc   | 5 cc  |
| 12,07 | 4 cc 5 | 5 cc  |
| 12,36 | 4 cc   | 6 cc  |

Citrat = dissolution de 21 grs 01 d'acide citrique dans 200 cc de Na OH N et porter à 1.000 cc avec de l'eau distillée.



Nous avons préparé une solution M/5 de  $\text{PO}_4\text{H Na}^2 \cdot 12 \text{ H}_2\text{O}$   
 358  
 contenant :  $\frac{\text{---}}{5} = 71 \text{ g. } 60$  de ce sel et une solution M/10 d'acide

citrique cristallisé à une molécule d'eau contenant :  $\frac{210}{10} = 21 \text{ g.}$   
 de cet acide.

Nous avons préparé nos extraits en traitant :

70 g. d'une poudre d'hydrastis titrant 3 g. pour cent d'hydrastine par une quantité suffisante de solvant tamponné au pH désiré pour obtenir 700 cm<sup>3</sup> de liqueur extractive.

Pour cela, les 70 g. de poudre sont humectés avec une quantité suffisante de solvant. Après 24 heures, cette masse est divisée au tamis et placée dans l'allonge d'un lixiviateur. Le robinet étant fermé, nous ajoutons une quantité suffisante de ce solvant pour baigner toute la masse et nous laissons macérer 48 heures.

Nous lixivions ensuite avec le restant du liquide et recueillons 700 cm<sup>3</sup>.

La liqueur obtenue est évaporée au B. M. et la dessiccation est terminée à l'étuve, la température de celle-ci étant réglée entre 90° et 95°.

Le produit desséché est pesé, broyé et pulvérisé.

Nous avons ainsi obtenu quatre extraits dont nous réunissons dans le tableau suivant les caractéristiques essentielles :

|                                                                                     |                                                                 | pH 3                                               | pH 5                                             | pH 7                                                                                       | pH 8                                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| 700 cm.<br>de sol-<br>vant —                                                        | $\text{PO}^4\text{Na}^2\text{H}$ 12<br>$\text{H}^2\text{O}$ M/5 | 143 cm <sup>3</sup> 85                             | 360,50                                           | 576,45                                                                                     | 680,75                                                    |
|                                                                                     | Acide citrique<br>1 $\text{H}^2\text{O}$ M/10                   | 556 cm <sup>3</sup> 45<br>soit<br>4 g. 14          | 339,50<br>soit<br>10,22                          | 423,55<br>soit<br>15,35                                                                    | 19,25<br>soit<br>19,31                                    |
| $\text{PO}^4\text{Na}^2\text{H}$<br>acide citrique                                  |                                                                 | 10 g. 67                                           | 6,50                                             | 2,36                                                                                       | 0,38                                                      |
| Total des matériaux dissous ..                                                      |                                                                 | 44 g. 81                                           | 16,72                                            | 17,71                                                                                      | 19,69                                                     |
| Rendement en extrait .....                                                          |                                                                 | 25 g.                                              | 27 g.                                            | 32 g.                                                                                      | 32 g.                                                     |
| Extractum .....                                                                     |                                                                 | 25 — 44,81 = 10,19                                 | 27 — 16,72 = 10,28                               | 32 — 17,71 = 14,29                                                                         | 32 — 19,69 = 12,31                                        |
| Quantité de poudre d'hydrastis<br>nécessaire pour obtenir 100<br>g. d'extrait ..... |                                                                 | 280 g.                                             | 259 g.                                           | 218 g.                                                                                     | 218 g.                                                    |
| Quantité d'hydrastine dans cet-<br>te poudre titrée à 3 % .....                     |                                                                 | 8,40                                               | 7,77                                             | 6,54                                                                                       | 6,54                                                      |
| Hydrastine dans l'extrait ob-<br>tenu .....                                         |                                                                 | 5,875                                              | 5,25                                             | 2,75                                                                                       | 2,12                                                      |
| Hydrastine non extraite .....                                                       |                                                                 | 2,525                                              | 2,52                                             | 3,79                                                                                       | 4,32                                                      |
| Couleur .....                                                                       |                                                                 | brun-vert foncé                                    | jaune d'or, reflet vert                          | terre de Sienne brûlée                                                                     | brun chocolat                                             |
| Conservation .....                                                                  |                                                                 | bonne, mais s'agglomère avec le temps, masse dure. | excellente, ne s'agglomère pas.                  | s'agglomère, m a s s e friable                                                             | s'agglomère, m a s s e friable                            |
| Solubilité dans l'eau .....                                                         |                                                                 | complète, solution louche.                         | complète, solution légèrement louche             | partiellement soluble                                                                      | partiellement soluble                                     |
| Observation .....                                                                   |                                                                 | lixiviation facile, pas de coagulum au chauffage.  | lixiviation facile, pas de coagulum au chauffage | lixiviation difficile, la poudre gonfle dans l'extrait, coagulum énorme, odeur désagréable | lixiviation difficile, peu de coagulum, odeur désagréable |

Il ressort de l'examen de ce tableau comparatif que : pour le pH 3 et pH 5, le pouvoir extractif du solvant vis-à-vis de l'hydrastine est le même. Il permet de solubiliser les deux tiers environ de l'hydrastine totale.

Les pH 7 et pH 8 ne solubilisent que peu d'alcaloïdes ; en revanche, les matières pectiques et mucilagineuses gênent considérablement l'extraction et passent partiellement dans le véhicule.

L'extrait à pH 5 paraît devoir être retenu, car la lixiviation est facile, l'épuisement aussi complet qu'avec les liqueurs de pH inférieurs. Sa couleur est franche, il est aisément pulvérisable. La conservation est excellente ; il ne s'agglomère pas.

Enfin, fait très important à notre avis, il est totalement soluble dans l'eau. Le seul inconvénient est que le soluté obtenu n'est pas parfaitement limpide.

Il faut insister sur cette solubilité. Les extraits officinaux, et en particulier l'extrait fluide, donnant par addition d'eau un précipité intense rendant pratiquement impossible l'introduction de cette forme galénique dans une préparation magistrale dont l'eau est le véhicule.

L'activité de cette préparation est indéniable, comme le démontre la planche I de notre chapitre sur le dosage biologique de l'extrait fluide d'hydrastis.



# DOSAGE DE L'HYDRASTINE ET DE LA BERBERINE

---

Ce chapitre comporte l'étude critique de diverses méthodes chimiques de dosage de ces alcaloïdes, un procédé de titrage physique original et une technique de titrage biologique.

Il est précédé par l'exposé des méthodes officinales de diverses pharmacopées.

## PHARMACOPEE FRANÇAISE

Codex 1937

**Dosage des alcaloïdes totaux.** — Pulvériser la drogue (tamis module 22), et déterminez la teneur en eau par séjour à l'étuve à 100°.

Pesez une quantité de poudre correspondant à 12 gr. 50 de drogue sèche que vous introduirez dans un flacon muni d'un bouchon de verre; humectez avec 15 cm<sup>3</sup> d'eau, 100 g. d'éther éthylique et 5 cm<sup>3</sup> d'ammoniaque officinale. Après deux heures de contact, ajoutez 25 g. d'éther de pétrole. Agitez fréquemment pendant deux heures. Décantez et filtrez le liquide éthéré. Recueillez 100 g. de filtrat que vous épuiserez dans une ampoule à décantation avec 10 cm<sup>3</sup> d'un mélange composé d'une partie d'acide chlorhydrique officinal et de quatre parties d'eau. Recueillez le liquide acide. Agitez encore à deux reprises la liqueur éthérée avec 5 cm<sup>3</sup> d'eau additionnée de quelques gouttes d'acide chlorhydrique officinal. Réunissez ces liqueurs acides aux précédentes. Ajoutez alors un excès d'ammoniaque et agitez fortement avec 50 g. d'éther éthylique. Après repos, recueillez par filtration 40 g. de liqueur éthérée. Evaporez dans une fiole tarée à poids constant. Le poids p du résidu correspondant à 8 g. de drogue desséchée.

$$p \times 12,5 = \text{hydrastine pour cent}$$

L'hydrastis officinal doit contenir au minimum 2,50 pour cent d'hydrastine.

## PHARMACOPEE ALLEMANDE

6<sup>me</sup> édition 1926

Doit contenir 2,2 % d'hydrastine.

6 g. d'extrait fluide d'hydrastis sont additionnés de 12 cm<sup>3</sup> d'eau dans un Becher de 100 cm<sup>3</sup> de capacité, puis évaporés au bain-marie bouillant jusqu'à environ 6 g., on y ajoute alors 1 g. de HCl dilué et on porte le tout par addition d'eau à 15 g. On y ajoute alors 1 g. talc, agiter et filtrer ces 10 g. de la solution (4 = g. extrait fluide) sur filtre sec de 6 cm. de diamètre dans un verre de 100 cm<sup>3</sup>, y ajouter 25 g. d'éther, agiter et ajouter 4 g. NH<sup>4</sup> OH, agiter fortement ajouter 15 g. d'éther de pétrole, après quelques minutes, ajouter 1 g. 5 de poudre de gomme adragante; agiter fortement jusqu'à clarification de la couche éthérée. Verser 30 g. de cette solution éthérée à travers un coton dans une capsule

et distiller cette solution jusqu'à obtention de quelques  $\text{cm}^3$ . Ajouter 5  $\text{cm}^3$  de HCl décimormal et 5  $\text{cm}^3$  de  $\text{H}_2\text{O}$  dans la capsule et chauffer au bain-marie jusqu'à disparition de l'odeur éthérée. Après refroidissement, ajouter 2 gouttes de solution de méthylorange et on titre avec une solution décimormale de potasse jusqu'à changement de couleur (virage). Pour cela, on doit employer au maximum 3,28  $\text{cm}^3$  de solution de potasse 1/10 normale, de sorte que au moins 1,72  $\text{cm}^3$  de la solution décimormale HCl soit nécessaire pour la saturation de la quantité d'hydrastine existante, ce qui correspond à un minimum de 2,2 % d'hydrastine (1  $\text{cm}^3$  de HCl 1/10 normal correspond à 0,03832 d'hydrastine en employant le méthylorange comme indicateur).

## PHARMACOPEE BELGE

4<sup>me</sup> édition 1930

Cet extrait fluide est préparé par lixiviation de la poudre de rhizome d'hydrastis à l'aide d'alcool à 60°.

Faite un extrait fluide contenant 2 pour cent d'hydrastine.

*Dosage de l'hydrastine.* — Mélangez dans une capsule tarée de 59  $\text{cm}^3$ , 6 g. d'extrait fluide d'hydrastis, 2 g. d'acide chlorhydrique dilué et 20 g. d'eau, évaporez jusqu'à réduction à 8 g. ; après refroidissement, ajoutez de l'eau jusqu'à poids total de 18 g. Ajoutez 1 g. de talc, mélangez au moyen d'un petit agitateur en verre ; filtrez sur filtre sec de 8 cm. de diamètre et recueillez dans un flacon taré de 100  $\text{cm}^3$ , 12 g. de filtrat correspondant à 4 g. d'extrait fluide.

Ajoutez 40  $\text{cm}^3$  d'éther, 3  $\text{cm}^3$  d'ammoniaque, agitez énergiquement pendant 10 minutes ; ajoutez ensuite 40  $\text{cm}^3$  de pétroléine, 3 g. de gomme adragante pulvérisée et agitez jusqu'à clarification complète de la solution éthérée.

Prélevez de celle-ci 70  $\text{cm}^3$  et introduisez-les dans un ballon de 125  $\text{cm}^3$ , puis évaporez-les prudemment jusqu'en environ 10  $\text{cm}^3$ . Bouchez le flacon et laissez reposer pendant 24 heures.

Décantez le liquide éthéré, séchez le ballon à 100° et pesez à poids constant. On doit obtenir, au moins, 70 milligrammes d'hydrastine cristallisée.

Ce tirage indique que la Pharmacopée Belge admet un titre variable pour l'extrait fluide minimum 2 %.

## PHARMACOPEE DES ETATS-UNIS

1926, 10<sup>me</sup> édition

L'extrait fluide d'hydrastis contient pour chaque 100  $\text{cm}^3$  pas moins de 1,8 g. et pas plus de 2,2 g. d'alcaloïde d'hydrastis soluble dans l'éther.

*Dosage.* — Utiliser le procédé type D en partant de 5  $\text{cm}^3$  d'extrait fluide, utilisant l'éther comme solvant et déterminer le titre en alcaloïde gravimétriquement.

*Procédé type D.* — Pipetter l'extrait fluide (5  $\text{cm}^3$ ) directement dans une ampoule à décantation contenant une portion du solvant spécifique (éther). Ajouter un volume d'eau distillée à peu près égal à celui de l'extrait fluide prélevé (5  $\text{cm}^3$ ), rendre le liquide alcalin par ajout de  $\text{NH}_3$  et extraire complètement les alcaloïdes par agitation avec des portions successives du solvant.

Extraction acide ; extraire complètement les alcaloïdes de la solution éthérée par agitation avec des portions successives de  $\text{SH}^4\text{H}^2$  dilué et filtrer chaque portion.

Après extraction avec plusieurs fractions d'acide, essayer quelques gouttes de la dernière portion utilisée pour voir s'il reste des alcaloïdes.

L'extraction doit être continuée jusqu'à ce que par addition d'une goutte d'iodomercure de potasse (ou dans le cas de l'hydrastis et du colchique, une goutte d'iode N10), on obtienne un léger trouble.

Ajoutez une portion du solvant spécifique (éther) à la solution acide et passer en milieu alcalin avec  $\text{NH}_3$ ; extraire complètement les alcaloïdes avec plusieurs portions successives du solvant; filtrer chaque portion séparée. Après extraction avec plusieurs fractions du solvant, évaporer environ 1  $\text{cm}^3$  de la dernière portion utilisée. Dissoudre le résidu dans quelques gouttes d'acide dilué et essayer pour voir s'il reste des alcaloïdes.

L'extraction doit être continuée jusqu'à ce que les réactifs précédemment utilisés ne donnent qu'un trouble à peine perceptible.

Les alcaloïdes peuvent être alors dosés volumétriquement ou gravimétriquement.

Dans le cas de l'hydrastis, utiliser une méthode gravimétrique.

## PHARMACOPÉE HOLLANDAISE

1926

Préparez un extrait fluide par percolation avec de l'alcool dilué d'un mélange de 200 parties racine d'hydrastis, mise en poudre et d'une demi-partie de poudre d'acide tartrique.

La percolation doit être continuée jusqu'à ce qu'un mélange de 1  $\text{cm}^3$  du liquide obtenu et de 2  $\text{cm}^3$  d'eau ne soit plus troublé par l'ammoniaque.

Laissez le liquide reposer pendant quatorze jours dans un endroit frais et filtrez. Déterminez la proportion d'hydrastine dans le liquide filtré et ajoutez, au besoin, de l'alcool dilué jusqu'à ce que la teneur en hydrastine soit réduite à 1,95 — 2,05 %.

Liquide jaune-brûnâtre, limpide, dans lequel l'acide nitrique produit un précipité cristallin jaune.

L'extrait d'hydrastis fluide doit, après évaporation au bain-marie et dessiccation, laisser un résidu sec de 17-22 %.

La teneur en hydrastine est déterminée de la façon suivante :

Mélangez 5  $\text{cm}^3$  d'eau et faites bouillir jusqu'à ce qu'il reste environ 10 g. Ajoutez 5  $\text{cm}^3$  d'acide chlorhydrique dilué et une quantité d'eau pour obtenir un poids de 20 g.

Agitez pendant quelques instants, laisser reposer pendant au moins six heures et filtrez, au besoin après adjonction de 1 g. de talc.

Agitez énergiquement pendant quelques minutes 10 g. du liquide filtré avec 25  $\text{cm}^3$  d'éther et 7  $\text{cm}^3$  d'ammoniaque; ajoutez d'abord 25  $\text{cm}^3$  d'éther de pétrole (point d'ébullition 65-80°) et ensuite 2 g. de poudre de gomme adragante, et agitez de nouveau énergiquement jusqu'à ce que le liquide soit devenu limpide.

Enlevez de 40  $\text{cm}^3$  du liquide (2 g. extrait), 32  $\text{cm}^3$  par distillation dans une petite cornue en verre de poids connu.

Ajoutez au reste un petit cristal d'hydrastine (moins de 1 mg.; laissez la cornue reposer fermée pendant 12 heures dans un endroit frais, versez le liquide et desséchez à 100° le résidu.

Le poids de l'hydrastine doit être de 39-41 mg.

Lorsque l'hydrastine, ainsi obtenue, est dissoute dans l'acide sulfurique et ensuite diluée d'eau, il se produit, par l'adjonction d'un peu de permanganate de potasse, une fluorescence bleue.

Dose maxima : pour une fois 1 g.  
pour 24 heures 4 g.

## PHARMACOPÉE ITALIENNE

5<sup>me</sup> édition, 1929, an VII

15 g. d'extrait sont évaporés au bain-marie jusqu'à réduction à 5 g. ; le résidu est repris par 5 g. d'eau et versé dans une ampoule à décantation ; on y ajoute 10 g. d'éther de pétrole, 50 g. d'éther oxyde et 5 g. d'ammoniaque ; on agite fortement et on laisse le tout en contact pendant une heure en agitant fréquemment. On décante ensuite l'éther sur un filtre sec (on prélève 50 g. de filtrat et on les agite dans une ampoule à décantation avec de l'acide chlorhydrique dilué (1 : 4) ; on sépare l'acide et on lave l'éther avec de l'eau acidulée par l'acide chlorhydrique, jusqu'à ce que quelques gouttes ne précipitent plus par le réactif iodo-mercurique. (Réactif de Mayer).

On remet les liqueurs acides dans une ampoule à décantation, on alcalinise par de l'ammoniaque et on traite par 50 cm<sup>3</sup> d'éther en agitant fortement, de temps en temps, pendant une heure. On prélève 40 cm<sup>3</sup> du liquide éthéré, décanté et filtré sur un filtre sec, on évapore au bain-marie dans un petit matras taré, le résidu est desséché à 100° et pesé : Il doit peser au moins 0,20 g.

100 g. doivent contenir au moins 2 g. d'hydrastine.

## PHARMACOPÉE JAPONAISE

4<sup>me</sup> édition

Peser 15 g. d'extrait dans une capsule de porcelaine tarée ; évaporer jusqu'à 5 g. environ au bain-marie. Transvider le résidu dans un ballon, rincer la capsule avec environ 10 cm<sup>3</sup> d'eau et mélanger ce lavage avec le résidu dans le ballon. Ajouter 15 cm<sup>3</sup> de benzine (Petroleum benzin), plus 75 cm<sup>3</sup> d'éther et 5 cm<sup>3</sup> d'eau ammoniacale ; laisser reposer le mélange en agitant fréquemment pendant une heure. Prendre 60 cm<sup>3</sup> de la solution éthérée, filtrer sur filtre sec, les placer dans une ampoule à décantation et agiter vigoureusement pendant 2 à 3 minutes avec 10 cm<sup>3</sup> d'un mélange de : une partie de HCl et quatre parties d'eau distillée.

Séparer le liquide acide clair, l'introduire dans un flacon et laver deux fois la solution éthérée avec 5 cm<sup>3</sup> chaque fois, d'eau acidifiée par quelques gouttes de HCl.

Joindre ces lavages à la liqueur acide précédente, sursaturer cette solution avec de l'eau ammoniacale, ajouter 50 cm<sup>3</sup> d'éther, laisser le mélange au repos pendant une heure en agitant fréquemment et énergiquement.

Filtrer 40 cm<sup>3</sup> de la solution éthérée surnageante à travers un filtre sec dans un récipient sec, taré et couvert.

Distiller l'éther ; le résidu séché à 100° et refroidi doit peser, à la fin, 0 g. 2 au moins.

Le dissoudre dans un mélange de 1 cm<sup>3</sup> d'eau et 1 cm<sup>3</sup> SO<sup>4</sup> H<sup>2</sup> dilué, agiter la solution, le filtrat devra présenter une fluorescence bleue.

## PHARMACOPÉE MEXICAINE

1937

L'extrait fluide d'hydrastis se prépare par lixiviation de la drogue avec de l'alcool à 70°.

Il doit contenir 2 % (0,02 gr. X cc) d'hydrastine.

Évaporez 15 cm<sup>3</sup> d'extrait dans une capsule de porcelaine au bain-marie jusqu'à ce que le résidu soit de 5 cm<sup>3</sup>, diluez ce résidu avec 10 cm<sup>3</sup> d'eau et transvasez dans une ampoule à décantation ; ajouter 15 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole,

70 cm<sup>3</sup> d'éther sulfurique et 5 cm<sup>3</sup> d'ammoniaque; agitez fortement pendant 2 ou 3 minutes, laissez reposer, séparer la partie aqueuse et filtrez l'éther sur un papier filtre bien sec. De ce filtrat on prélève 70 cm<sup>3</sup> que l'on place dans une ampoule à décantation, ajoutez 10 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique à 20 %. Agitez fortement pendant quelques minutes, laissez reposer, soutirez la partie aqueuse que l'on versera dans une nouvelle ampoule à décantation. Lavez la partie éthérée qui est restée dans la première ampoule avec 2 fois 5 cm<sup>3</sup> d'eau acidulée par l'acide chlorhydrique. Ces eaux de lavage sont mélangées avec la précédente extraction aqueuse.

Ces solutions aqueuses réunies sont traitées par une solution d'ammoniaque en excès et 70 cm<sup>3</sup> d'éther sulfurique, agitez fortement, laissez reposer. Séparez dans une autre ampoule la partie aqueuse et traitez-la deux fois par 30 cm<sup>3</sup> d'éther. Filtrez les solutions éthérées et évaporez-les au bain-marie dans un ballon en verre taré jusqu'à poids constant.

La différence de poids donnera la quantité d'alcaloïde contenue dans 10 cm<sup>3</sup> qui, multipliée par 10, donnera la teneur pour 100 cm<sup>3</sup>.

Traiter 1 cm<sup>3</sup> de l'extrait par 4 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique dilué, au bout de 15 minutes doivent apparaître des cristaux de sulfate de berbérine.

Une partie d'extrait diluée dans 20 cm<sup>3</sup> d'eau, de cela on prélève une partie que l'on traite par l'acide chlorhydrique et par de l'eau de chlore, il doit se produire une coloration rose.

N. B. — Ce texte comporte une erreur. La quantité d'éther de pétrole doit être de 35 cm<sup>3</sup>.

L'éther de pétrole distille à moins de 50°.

## PHARMACOPÉE RUSSE

Pages 276-278

Dans un ballon de 250 cm<sup>3</sup> taré, on verse 6 cm<sup>3</sup> d'eau distillée et 6 g. d'extrait fluide.

Le mélange est évaporé jusqu'à 8 g. en tenant le ballon horizontalement. Après refroidissement, on ajoute 120 g. d'éther, on agite, on ajoute de l'ammoniaque étendu et on agite pendant 5 minutes. On laisse en repos 15 minutes. Après le repos, on filtre sur coton 100 g. d'éther (= 5 g. d'extrait), lequel est lavé par 30, 10, 10, 10 cm<sup>3</sup> de solution d'acide NO<sup>3</sup> H à 0,5 %. Les liqueurs acides sont alcalinisées par l'ammoniaque et on épuise par 30, 10, 10 et 10 cm<sup>3</sup> d'éther.

Après quoi, on réunit les quatre solutions éthérées, on filtre sur coton dans un ballon taré, on distille l'éther et le résidu est séché à 100° à poids constant on pèse. Le poids doit être égal de 0,1 à 0,11.

Dans l'extrait tout prêt on doit avoir 63° à 65° d'alcool en volume.

Dans l'extrait préparé on ajoute 0,25 % d'acide tartrique pour empêcher la précipitation.

## PHARMACOPÉE ESPAGNOLE

1930 — page 341

Extrait hydro-alcoolique glyciné, dont le titre en hydrastine doit être de 2 %.

Dans une petite capsule plate, peser 15 g. de liqueur extractive, évaporer pour réduire à 5 g., diluer avec 10 g. d'eau distillée et faites passer le tout dans un flacon bouchant à l'émeri de 250 cm<sup>3</sup>; lavez la capsule avec 10 g. d'eau et verser cette solution dans le flacon. Ajoutez alors 150 cm<sup>3</sup> d'éther et

5 cm<sup>3</sup> d'ammoniaque. Agitez le mélange de temps en temps durant une heure, puis laissez reposer.

Décantez le liquide étheré limpide, mesurez 100 cm<sup>3</sup> de cet éther (= 10 g. de liqueur extractive) dans une ampoule à décantation et épuisez-les par agitation successive avec trois portions de 30, 20 et 10 cm<sup>3</sup> d'un mélange d'une partie d'acide chlorhydrique et 4 parties d'eau. Recevez les liqueurs de lavage dans une autre ampoule.

Alcalinisez le tout par l'ammoniaque et épuisez de nouveau par agitation en trois fois avec 30, 20, 10 cm<sup>3</sup> d'éther qui seront réunis et filtrés sur du coton hydrophile préalablement lavé à l'éther et recueillis dans un Erlenmeyer taré.

L'éther est évaporé avec précaution. Le résidu est desséché à + 100°. On laisse refroidir dans un dessiccateur et on pèse.

Le poids du résidu multiplié par 10 exprime l'hydrastine contenue dans 100 g. de liqueur extractive essayée.

## PHARMACOPEE SUEDOISE

1925

L'extrait fluide d'hydrastis doit titrer 2 % d'hydrastine.

7 g. d'extrait sont additionnés de 7 cm<sup>3</sup> d'eau, on évapore à 6 g. Ensuite le résidu est additionné de 2 g. d'acide chlorhydrique 2 N, puis on ajoute de l'eau de manière à avoir 14 g. de solution que l'on agite avec 0,5 g. de talc.

On filtre et on recueille 10 g. de soluté correspondant à 5 g. d'extrait. Ajoutez 5 g. d'ammoniaque 5 N, puis 75 g. d'éther, on agite énergiquement 5 minutes puis on ajoute 1 g. 5 de poudre de gomme adragante et on agite à nouveau.

On filtrera 60 g. de la solution étherée limpide, correspondant à 4 g. d'extrait; l'éther sera distillé. Le résidu sera dissous dans 5 cm<sup>3</sup> d'éther. On ajoute alors 10 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique N/10, puis 3 gouttes de rouge de méthyle et une goutte de bleu de méthylène. On titrera avec une solution alcaline N/10. Il faudra employer au maximum 7 cm<sup>3</sup> 9 de cette solution.

(1 cm<sup>3</sup> 1/10 normal d'acide chlorhydrique correspondant à 0,0383 de C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>O<sub>6</sub> N).

## PHARMACOPEE SUISSE

1934

Dans une capsule de porcelaine, évaporez au bain-marie 5 g. d'extrait fluide d'hydrastis jusqu'à réduction à 1/3. Versez le résidu dans un flacon de 150 cm<sup>3</sup> en rinçant la capsule avec 8 cm<sup>3</sup> d'eau en tout, ajoutez 50 g. d'éther + 1 cm<sup>3</sup> d'ammoniaque concentrée, agitez souvent et vigoureusement pendant une demi-heure. Ajoutez alors 2 g. de gomme adragante en poudre et agitez vigoureusement; filtrez au coton hydrophile dans un ballon d'Erlenmeyer 40 g. de la solution étherée (= 4 g. d'extrait fluide), versez cette solution dans une ampoule à décantation et rincez le ballon avec un peu d'éther. Agitez-la deux fois avec, chaque fois, 10 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique très dilué (mélange de 10 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique dilué P + 90 cm<sup>3</sup> d'eau), puis deux fois encore ou davantage avec chaque fois 5 cm<sup>3</sup> de ce même acide très dilué, jusqu'à ce que quelques gouttes de la dernière agitation ne soient plus troublées par 2-3 gouttes de réactif de Mayer.

Réunissez les liqueurs acides dans une deuxième ampoule à décantation; alcalinisez-les avec de l'ammoniaque diluée R, puis agitez-les pendant quelques minutes avec 25 cm<sup>3</sup> d'éther. Ajoutez 25 cm<sup>3</sup> d'éther de pétrole, agitez vigoureusement et laissez les couches liquides se séparer.

Faites passer la solution aqueuse dans une troisième ampoule à décantation et filtrez au coton hydrophile la solution éthérée dans un ballon d'Erlenmeyer de 150 cm<sup>3</sup>, exactement taré. Traitez la solution aqueuse encore deux fois, ou davantage, avec, chaque fois, un mélange de 10 cm<sup>3</sup> d'éther et d'éther de pétrole jusqu'à ce que quelques gouttes de la dernière agitation, évaporées puis reprises par quelques gouttes d'acide chlorhydrique dilué R, ne soient plus troublées par 2-3 gouttes de réactif de Mayer.

En filtrant au coton hydrophile, ajoutez ces extractions à la première dans le ballon d'Erlenmeyer; distillez la plus grande partie du solvant au bain-marie et laissez évaporer le reste à la température ordinaire.

Faites sécher le résidu à 103°-105° et pesez après refroidissement. Le poids doit être au minimum de 0,0780 g. et au maximum de 0,0820 g., ce qui correspond à une teneur minimum de 1,95 % et à une teneur maximum de 2,05 % d'hydrastine.

L'extrait fluide d'hydrastis de la Pharmacopée Suisse se prépare en dissolvant 20 parties d'un extrait sec d'hydrastis titrant 9,75-10,25 % d'hydrastine, dans 80 parties d'alcool dilué à 70°.

Si l'on parcourt les formulaires officiels des diverses nations, on voit que le fait qui domine dans le critérium d'essais de l'extrait fluide d'hydrastis, c'est la teneur en hydrastine.

La berbérine, complètement négligée, est laissée dans l'oubli par eux. Cependant, des travaux nombreux ont été effectués en vue de sa caractérisation et de son dosage, tant dans le rhizome d'hydrastis que dans les préparations galéniques qui en dérivent.

Dans ce chapitre, nous avons considéré les dosages de l'hydrastine et de la berbérine.

L'hydrastine a été dosée :

Par la méthode du Codex français ;

Par un procédé volumétrique analogue à ceux utilisés par les Pharmacopées suédoise et allemande ;

Par un procédé gravimétrique après précipitation ;

Par un procédé physique ;

Par une méthode biologique.

Pour la berbérine, nous avons dosé cet alcaloïde par une méthode gravimétrique et une méthode physique. Nous avons également démontré l'importance synergique de l'association berbérine-hydrastine.

Toutes les pharmacopées sont unanimes à admettre que l'on peut apprécier la valeur de l'extrait fluide d'hydrastis par la détermination de la teneur en hydrastine de cette préparation.

Les unes exigent un titre absolu de 2 % (Pharmacopées suédoise, mexicaine).

Certaines fixent les limites minima et maxima du titre qui peut varier entre 1,95 et 2,05 % (Pharmacopées suisse, hollandaise) ; 2 et 2,20 % (Pharmacopée russe) ; 1,80 à 2,20 % (Pharmacopée des Etats-Unis).

Les autres indiquent, seulement pour ce titre, un minimum au-dessous duquel le produit doit être rejeté. 2 % (Pharmacopées française, 1908, belge, italienne, japonaise) ; 2,2 % (Pharmacopée allemande) ; 2,50 % (Pharmacopée française, 1937).

Les méthodes officielles de dosages se résument ainsi : Evaporation de l'alcool. Alcalinisation franche par l'ammoniaque et extraction de l'hydrastine soit par l'éther oxyde seul (Pharmacopées espagnole, russe, suédoise), soit le plus souvent par l'éther oxyde en présence d'éther de pétrole ; les proportions de ces solvants étant d'ailleurs fort variables et les quantités étant indiquées soit en volume, soit en poids.

L'extraction terminée, le dosage, généralement, se poursuit par une purification par passage de l'alkaloïde à l'état de chlorhydrate, de nitrate (Pharmacopée russe) ou de sulfate (Pharmacopée américaine) solubles dans l'eau. Cette opération étant suivie par une nouvelle alcalinisation à l'ammoniaque et extraction par l'éther (exception faite pour les Pharmacopées belge, suédoise, allemande).

Ici, alors que la plupart des Pharmacopées préconisent un certain nombre d'épuisements et considèrent celui-ci comme total, d'autres indiquent d'épuiser jusqu'à extraction totale contrôlée par un réactif précipitant de l'alkaloïde (Pharmacopées suisse, italienne, américaine).

Enfin, le dosage se termine le plus souvent gravimétriquement après distillation de l'éther et dessiccation à 100° (Pharmacopées française, belge, russe, espagnole, suisse, hollandaise, italienne, japonaise, américaine).

Deux Pharmacopées seulement adoptent un titrage volumétrique terminal (Pharmacopées suédoise, allemande), en présence d'ailleurs de réactifs indicateurs colorés différents.

Nous avons essayé ces diverses méthodes et pouvons formuler les observations suivantes, ayant trait :

- 1° Au mesurage des solvants ;
- 2° A la conduite de l'épuisement ;
- 3° Au titrage.

### Le mesurage des solvants en poids

Est une pratique qui, à notre avis, devrait être rejetée, car chacun sait combien la volatilisation de l'éther est rapide et pour peu que la température du laboratoire dans lequel on opère soit élevée, il devient pratiquement impossible de peser exactement un poids déterminé du mélange volatil.

Il y a concentration du liquide extractif par départ d'une partie du solvant et erreur de dosage par excès.

Le mesurage plus rapide à effectuer est préférable, mais encore faudrait-il éviter les erreurs de dilatation et opérer après avoir placé solvants et ensemble opératoire dans un thermostat réglé à une température déterminée (+ 15°, par exemple, ou mieux, + 4°, température normale des appareils réfrigérateurs électriques modernes).

### L'épuisement

En milieu ammoniacal par l'éther de pétrole (10 g.) et l'éther oxyde (50 g.), pratiqué ainsi que l'indique notre formulaire légal, n'est pas complet.

Un exemple nous permettra de nous en rendre compte :

| Extrait        | Extraction Codex | 2 <sup>me</sup> extraction | 3 <sup>me</sup> extraction |
|----------------|------------------|----------------------------|----------------------------|
| S <sup>1</sup> | 1,96 %           | 0,01 %                     | 0,006 %                    |

Cependant, ainsi que nous le constatons, le déficit est seulement de 0,8 pour cent.

L'extraction par l'eau acide pratiquée en trois fois, ainsi que le veut notre pharmacopée, donne un épuisement pratiquement total.

Ici, une remarque importante est à formuler.

Le mode opératoire décrit par le Codex paraît indiquer que le produit obtenu par ces extractions successives est de l'hydrastine et seulement de l'hydrastine.

Nous avons appliqué la méthode officielle à des mélanges de chlorhydrate d'hydrastine et de chlorhydrate de berbérine. Voici les résultats obtenus :

Une solution d'hydrastine pure nous a donné 0,766 pour cent d'alcaloïde. Cette même solution, additionnée de 1 % de chlorhydrate de berbérine, nous donne : 0,813 pour cent, soit une augmentation de 0,047 pour cent due à de la berbérine.

En conséquence, l'insuffisance d'extraction en milieu ammoniacal de l'hydrastine est largement compensée par la berbérine qui passe en solution et, en définitive, le titrage officiel nous donne un résultat exprimé en hydrastine par excès.

Le titrage pondéral est parfait, à condition d'avoir soigneusement vérifié que l'éther de pétrole est Codex, c'est-à-dire distille en totalité au-dessous de 50°, et de maintenir le ballon à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant, ce qui témoignera du départ total de l'eau apportée par l'éther oxyde.

Cependant, le titrage volumétrique a un avantage : il permet d'opérer dès que les solvants volatils ont distillé et de réaliser ainsi une économie notable de temps.

Nous avons exposé les modes opératoires de ces deux Pharmacopées. Il convient de remarquer que la Pharmacopée suédoise utilise une extraction avec de l'éther oxyde seul, alors que la Pharmacopée allemande emploie de l'éther oxyde auquel on ajoute de l'éther de pétrole, la berbérine paraissant moins soluble dans ce dernier solvant.

Le réactif indicateur mixte de la Pharmacopée suédoise vire du violet au vert pour un pH de 6,5.

Le réactif indicateur de la Pharmacopée allemande vire du rose au jaune pour un pH de 4,4.

Etant donnée la netteté du virage du réactif mixte, nous l'avons adopté pour nos dosages et nous avons utilisé la technique suivante, qui nous paraît la mieux adaptée pour obvier aux inconvénients que nous avons signalés plus haut :

15 g. d'extrait sont évaporés au B. M. jusqu'à réduction à 5 g. Le résidu est ensuite additionné de 5 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique normal. On ajoute de l'eau distillée de manière à obtenir 15 cm<sup>3</sup>, 1 g. de talc, on agite et on filtre. On recueille 10 cm<sup>3</sup> de filtrat correspondant à 10 g. d'extrait fluide que l'on verse dans un flacon de 250 cm<sup>3</sup> bouchant émeri. Après avoir ajouté 5 cm<sup>3</sup> d'ammoniaque, on agite 5 minutes avec 100 cm<sup>3</sup> d'un mélange à volumes égaux d'éther de pétrole et d'éther oxyde, mesuré à + 4°.

Pour détruire l'émulsion, on jette dans le flacon 1 g. 50 de poudre adragante et l'on agite à nouveau.

Après avoir laissé le flacon quelques instants dans le thermostat à + 4, on décante rapidement 80 cm<sup>3</sup> du mélange volatil (8 g. d'extrait).

Dans une ampoule à décantation, ce mélange est traité trois fois par 20 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique normal.

Les liqueurs acides sont alcalinisées par 5 cm<sup>3</sup> d'ammoniaque et agitées ensuite 5 minutes avec 80 cm<sup>3</sup> du mélange éther-oxyde, éther de pétrole mesurés à + 4°.

Après équilibre thermique, on recueille par décantation 60 cm<sup>3</sup> de ce mélange volatil (6 g. d'extrait).

On distille au B. M. ; le résidu chaud est traité par 10 cm<sup>3</sup> de SO<sup>4</sup>H<sup>2</sup> N/10.

On laisse refroidir et on titre volumétriquement, comme l'indique la Pharmacopée suédoise.

A côté de la méthode du Codex et de la méthode volumétrique, nous avons appliqué une méthode pondérale.

R. Wasiky et M. Joachimowitz (69), parmi les méthodes utilisées, préconisent une précipitation de l'hydrastine et de la berbérine par le réactif de Mayer. Le précipité obtenu, traité par l'alcool, permet la séparation de l'iodomercurate d'hydrastine, qui est soluble, de l'iodomercurate de berbérine, insoluble. Wattiez (63) préfère précipiter l'hydrastine par l'acide silico-tungstique, calciner le précipité et peser. C'est cette méthode que nous avons adoptée.

Voici comment l'auteur préconise d'opérer :

Six grammes d'extrait fluide d'hydrastis sont évaporés jusqu'à consistance sirupeuse. On reprend par une quantité suffisante d'acide sulfurique dilué au quart pour obtenir 15 g. de liqueur.

On laisse reposer une heure. Le sulfate de berbérine se forme lentement et précipite. On ajoute alors 1 g. de talc ; on mélange et on filtre sur un petit filtre plissé. On recueille dans un Erlhenmeyer de 125 cm<sup>3</sup> taré, 10 g. de solution acide que l'on alcalinise par 5 à 6 cm<sup>3</sup> d'ammoniaque.

On laisse refroidir. On ajoute 40 g. d'éther éthylique. On agite fréquemment et vigoureusement pendant 30 minutes.

On laisse reposer et on décante dans une boule à décantation 35 g. (3 g. 5 d'extrait) de solution éthérée, que l'on lave d'abord à l'eau distillée et que l'on épuise ensuite avec une solution d'acide chlorhydrique à 1/100 jusqu'à ce que la solution aqueuse ne donne plus aucun louche par le réactif de Mayer.

On réunit les liqueurs aqueuses acides, on les filtre, on rince le filtre avec quelques centimètres cubes d'eau distillée, puis on les porte au bain-marie pour chasser l'éther incorporé.

On laisse refroidir, on y précipite l'hydrastine par 15 cm<sup>3</sup> d'acide silico-tungstique à 5 %. On chauffe directement et on porte à l'ébullition, puis on laisse reposer 24 heures, on filtre sur un filtre sans cendres, on lave jusqu'à disparition de toute acidité. On calcine et on pèse.

On multiplie le résultat obtenu par 28,57 pour avoir le poids des acides silicique et tungstique qui correspond à 100 g. d'extrait fluide.

Ce poids multiplié par le coefficient :

$$\frac{4 \text{ C}^{21} \text{ H}^{21} \text{ NO}^6}{12 \text{ Tu O}^3 \text{ Si O}^2} = 0,534.$$

donne le pourcentage en hydrastine.

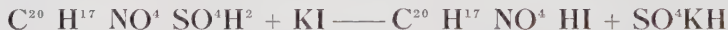
Nous avons suivi exactement ce mode opératoire.

### Dosage de la berbérine

La berbérine, avons-nous dit, n'est pas prise en considération par les formulaires officiels, tout au moins en ce qui concerne son dosage. Cependant, de nombreuses méthodes ont été décrites.

R. Wasiky et M. Joachimowitz (62) dosent la berbérine par l'acide picrolonique. H. -M. Gordin (64) donne pour doser ce corps plusieurs méthodes.

*L'une volumétrique* : une solution de sulfate de berbérine précipite par un excès d'iode de potassium en donnant dans le liquide filtré une molécule d'acide monobasique pour chaque molécule d'alcaloïde.



On dose l'acidité du filtrat par la potasse N/10 en présence de phénolphthaléine.

*D'autres pondérales* : une solution de berbérine neutre ou faiblement acide précipite quantitativement par un excès d'iode de potassium et peut se prêter ainsi à la séparation des bases qui l'accompagnent. Cet iodhydrate d'alcaloïde se transforme quantitativement par combinaison avec l'acétone en une combinaison stable à 100°-105° qui peut être desséchée et pesée.

Chaque 10 cm<sup>3</sup> d'une solution aqueuse de berbérine sont additionnés de 1 à 2 cm<sup>3</sup> de lessive de soude à 10 %, puis filtrés au cas où le liquide est trouble.

Le filtrat est porté à 50° et additionné de 5 cm<sup>3</sup> d'acétone. On obtient une combinaison cristallisée de berbérine-acétone dont on peut isoler la berbérine par addition d'acide chlorhydrique.

La berbérine donne à froid, avec de l'acide sulfurique, du sulfate de berbérine insoluble dans l'éther oxyde.

Nous avons utilisé la deuxième méthode de Gordin. Combinaison de berbérine-acétone en présence de soude et pesée.

Enfin, pour l'hydrastine et la berbérine, nous allons exposer une méthode spectrophotométrique permettant le dosage simultané de chacun de ces corps.

Puis, pour l'hydrastine, nous décrirons une méthode pharmacodynamique.

Enfin, nous rassemblerons en un tableau comparatif les résultats obtenus par chacune de ces méthodes.

---



# ETUDE SPECTROGRAPHIQUE DE L'EXTRAIT FLUIDE D'HYDRASTIS DOSAGE DE L'HYDRASTINE ET DE LA BERBERINE

---

Avant d'exposer nos recherches sur le dosage de l'hydrastine et de la berbérine dans l'extrait fluide d'hydrastis, il nous paraît utile de reproduire ici les quelques principes de la méthode d'analyse qui utilise l'absorption par certains corps de fractions plus ou moins étendues du spectre visible ou invisible.

Ces principes et l'exposé des méthodes étudiées et mises au point par les travaux du Professeur Chevallier (65), de Dubouloz (66-67) et de Pierre Chabre (69), sont parfaitement décrits dans la thèse de Paul Chabre (70) pour le dosage de la vitamine A dans l'huile de foie de morue.

Nous lui empruntons ce qui suit :

« Les spectres d'absorption sont caractéristiques du corps recherché. Les biologistes l'ont également utilisé pour l'étude des pigments. En dehors de cette méthode spectroscopique, analytique et qualitative, on a essayé et mis au point l'étude de l'intensité de l'absorption pour déterminer quantitativement le corps recherché.

« L'absorption est régie par deux lois :

« **Loi de Lambert.** — Un milieu homogène ayant une épaisseur est traversé par une radiation d'une intensité originelle de  $I_0$ . A la sortie de ce milieu, la radiation pourra avoir été partiellement absorbée si la longueur d'onde de la radiation a été convenablement choisie. La nouvelle intensité est désignée par  $I$ .

« Si nous considérons le milieu traversé, nous pouvons supposer qu'il est composé de tranches successives. Admettons qu'après avoir traversé la première tranche, l'intensité ait diminué de moitié, nous pourrions écrire que  $\frac{I_0}{I} = 2$ .

En abordant la deuxième tranche de ce milieu homogène, l'intensité étant la moitié de l'intensité originelle, nous pourrions écrire que l'intensité à la sortie de

la deuxième tranche aura diminué de moitié et écrire que  $\frac{I_0}{I} = 4$ , à la sortie de la troisième que  $\frac{I_0}{I} = 8$ , etc. Nous constatons donc que l'épaisseur croît arithmétiquement —

croît en proportion géométrique, et nous pouvons traduire ce fait en disant que  $\log \frac{I_0}{I}$  est proportionnel à  $I$ . C'est la loi de Lambert.

« **Loi de Beer.** — La loi de Beer exprime que pour une substance donnée, l'absorption ne dépend que du nombre de molécules absorbantes traversées indépendamment de la longueur sur laquelle elles sont réparties. Cette loi se vérifie en solution diluée.

On obtient donc la relation suivante, dite de Beer-Lambert :

$$\log \frac{I_0}{I} = e C l$$

$e$  = Coefficient d'absorption de la substance pour la longueur d'onde.

$C$  = Concentration.

$l$  = Epaisseur.

« Pratiquement, l'épaisseur est de 1 cm. et la concentration de 1 %. On obtient donc une courbe caractéristique de la substance étudiée en notant les variations en fonction de la longueur d'onde.

« La mesure de l'absorption dans l'ultra-violet peut se faire par deux méthodes : la spectrographie et la spectrophotométrie.

« La spectrographie consiste à impressionner une plaque photographique par les rayons ultra-violets émis par une source et dispersés par une optique en quartz. Le spectre est reproduit sur la plaque. Si l'on intercale sur le faisceau incident une substance absorbante, on aperçoit les variations du noircissement photographique qui correspondent à l'absorption.

« En faisant varier, soit le temps de pose, soit l'épaisseur de la substance examinée, on pourra mettre en évidence celle-ci.

« Lorsqu'il s'agit de faire non plus une analyse qualitative, mais de faire une mesure quantitative, on étudie les spectrogrammes obtenus en faisant défiler les clichés devant une cellule photo-électrique après les avoir éclairés par une lampe. Les variations du noircissement de la plaque déterminent des différences d'intensité dans le courant photo-électrique qui, après amplification, seront finalement traduites sur le papier par un galvanomètre enregistreur. Cette méthode est longue et délicate; elle comporte plusieurs opérations et ne présente pas une sensibilité uniforme avec la longueur d'onde.

« La spectrophotométrie, en utilisant une cellule photo-électrique convenable, est une mesure directe de l'absorption dans l'ultra-violet. On élimine donc l'emploi de la plaque photographique; mais elle présente, par contre, l'inconvénient de n'être sensible que dans un petit domaine spectral.

« Elle consiste, en effet, à projeter le faisceau ultra-violet dispersé par un monochromateur sur une cellule photo-électrique à paroi de quartz. Le métal photo-électrique employé est en général le cadmium, mais une telle cellule possède une courbe de sensibilité extrêmement aiguë dont le maximum est à 2825 Å°. De part et d'autre de ce point, la chute est si rapide que la cellule se présente à 3000 Å° comme cinq fois moins sensible qu'à 2825. Si l'on utilise une cellule au potassium, on aura vers le violet (4200 Å°) une sensibilité très grande qui deviendra pratiquement nulle dans l'ultra-violet au-dessous de 3600 Å°, même si les parois de la cellule sont en quartz. Cette très grande sélectivité de l'effet photo-électrique suivant la longueur d'onde, pour un métal donné, restreint beaucoup l'emploi de la spectrophotométrie dans le domaine ultra-violet.

« Cependant, MM. Chevallier et Dubouloz (1931-1932), ont mis au point une méthode spectrophotométrique qui permet, d'une manière simple et précise, les mesures d'absorption dans toute l'étendue de l'ultra-violet depuis 4000 jusqu'à 1850 Å°.

« C'est cette technique que nous avons utilisée et que nous allons décrire maintenant.

« Son principe consiste à supprimer l'effet de sélectivité en intercalant entre

une cellule photo-électrique et le faisceau ultra-violet une substance fluorescente de salicylate de soude. Dans ces conditions, le métal photo-électrique n'est plus impressionné par le faisceau ultra-violet lui-même, mais par la lumière de fluorescence qu'il provoque. Ce procédé est correct, car on sait qu'il y a proportionnalité entre l'intensité de la lumière excitatrice et la lumière de fluorescence d'une part, et que, d'autre part, celle-ci a toujours la même composition, quelle que soit la longueur d'onde de la lumière excitatrice. Autrement dit, si l'on recouvre une cellule photo-électrique de salicylate, cette substance jouera le rôle d'un véritable relai, et transformera en lumière fluorescente violette toute radiation de longueur d'onde inférieure. Si le métal photo-électrique de la cellule est de potassium, qui a précisément son maximum de sensibilité dans le violet, vers 4000 Å°, on aura réalisé un récepteur dont la sensibilité sera maximum et qui restera toujours constante.

La mesure de l'absorption avec la méthode de MM. Chevallier et Dubouloz comporte le dispositif suivant : la source d'ultra-violet employée est le tube d'hydrogène de Chalonge et Lambrey (fig. 4). Ce tube fournit un spectre continu intense, ce qui est très précieux pour les mesures d'absorption et peut être considéré comme une source constante. Les irrégularités que l'on constate dans son émission proviennent uniquement de celles qui sont afférentes à la tension d'alimentation. Celle-ci, qui atteint normalement 2000 volts, est fournie à l'aide d'un transformateur dont le primaire est parcouru par le courant du secteur. Aussi, pour éviter toute variation, on intercale sur le primaire une self variable et un ampèremètre thermique. Ayant adopté une intensité délinée, 2000 mA par exemple, on s'y tient pendant toute la durée des mesures. A la sortie du tube, le faisceau ultra-violet, rendu parallèle par une lentille de quartz, pénètre perpendiculairement aux faces d'une cuve représentée par la figure ci-dessous.

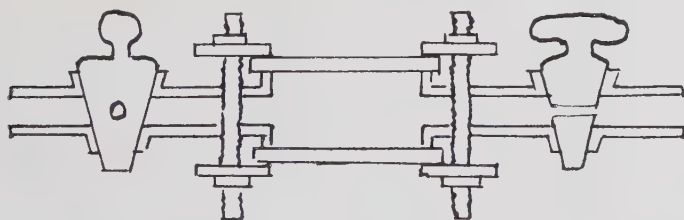


FIGURE 3

Cette cuve est constituée par un cadre circulaire en verre de 3 cm. de diamètre environ. Sur chacune des faces de ce cadre sont appliquées deux lames de quartz soudées au cadre avec du silicate de soude, de la picrine ou de la gélatine bichromatée. On s'arrange pour que l'épaisseur du cadre résulte une distance de 1 cm. entre les deux lames de quartz. De part et d'autre du cadre en verre, sont soudés deux tubes de verre à robinet. C'est dans cette cuve cylindrique qu'on introduit la solution à examiner.

Pour nos déterminations, nous avons utilisé cette cuve, mais les lames de quartz ont été soudées au cadre par de la paraffine, afin d'éviter toute dissolution perturbatrice pendant l'expérimentation.

L'adhérence de la paraffine étant très insuffisante pour maintenir les lames, nous avons été obligé de parfaire l'accolement à l'aide d'un double cadre métallique maintenu par quatre vis de serrage.

Pour le maniement de l'appareil un écran opaque escamotable est situé derrière la lentille de quartz qui rend parallèle le faisceau qui sort du tube de Chalonge et Lambrey. Il permet d'interrompre à volonté le passage de ce faisceau dans l'ensemble de l'appareil.

La cuve cylindrique à paroi de quartz est supportée par un bras rigide basculant autour d'un axe et peut ainsi très facilement être soustraite au trajet des rayons et reprendre d'une manière rigoureuse sa place perpendiculairement au faisceau.

Le faisceau sortant de la cuve est repris par une seconde lentille qui le fait converger sur la fente d'entrée d'un monochromateur.

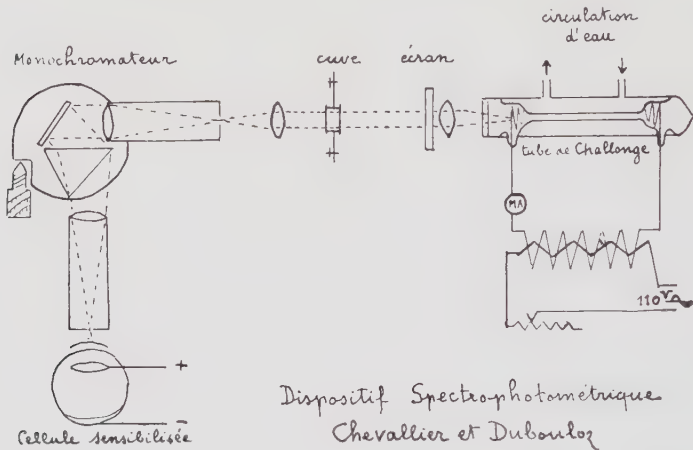


FIGURE 4

« Une fois dispersée, les radiations ultra-violettes choisies viennent frapper la cellule photo-électrique recouverte de salicylate de soude. Le courant photo-électrique engendré dans ces conditions est extrêmement faible, même en se servant des cellules les plus sensibles, à atmosphère gazeuse. En portant la cathode à un potentiel peu inférieur au potentiel d'illumination, les courants sont de l'ordre de  $10^{-12}$  ampère. Il serait difficile d'en faire la mesure directe, mais le problème devient très simple si on peut arriver à une amplification suffisante, et surtout rectiligne, du courant initial.

« Dans ce but, on utilise une amplification à résistance par triode. La cathode de la cellule est portée à un potentiel de 120 à 150 volts, suivant le type de cellule, tandis que l'anode réunie à la grille de la triode lui transmettra le courant à amplifier. Grille et anode sont portées à un potentiel faiblement négatif par l'intermédiaire d'une très faible résistance ; plusieurs centaines de mégohms. Si la lampe était parfaite, c'est-à-dire le courant de grille nul pour les potentiels négatifs, on aurait une amplification à la fois correcte et facile à calculer. Le potentiel pris par la grille serait égal au produit de l'intensité du courant photo-électrique multiplié par la valeur de la résistance de fuite.

« En prenant une lampe ayant une pente de 1 mA par volt, on aurait une amplification de  $10^6$  en utilisant une résistance de 1.000 mégohms.

« Mais il n'en est malheureusement pas ainsi et de telles lampes n'existent pratiquement pas. La résistance intérieure des lampes n'est pas infinie, ceci est dû à de multiples causes dont les principales sont certainement l'isolement du pied de la lampe qui n'est pas parfait et le vide à l'intérieur de l'ampoule qui n'est pas absolu.

« Ce dernier facteur agit par suite de l'ionisation des gaz résiduels, ionisation qui est proportionnelle à la tension portée par la plaque. On a donc intérêt, dans un tel montage, à réduire celui-ci autant que possible. Mais on est limité dans cette voie par la valeur du courant plaque, de telle sorte qu'il n'est guère possible de descendre au-dessous de 40 volts. Dans ces conditions, pour connaître exactement quelle valeur de polarisation négative il faut donner à la grille, afin d'obtenir une amplification rectiligne, il est nécessaire de construire les caractéristiques de plaque et de grille, pour les valeurs négatives de grille. On connaîtra la polarisation convenable en prenant sur la courbe de grille une pente droite et négative, celle-ci correspondant, en général, à un potentiel voisin de — 2 volts.

« Toutes les lampes ne permettent pas ce choix et notamment celles dont le courant de grille est très fort. Elles seront inutilisables et, en principe, on doit rejeter celles dont le courant de grille est supérieur à  $5 \times 10^{-10}$  ampère.

« D'autre part, une telle lampe choisie (D. 9 Fotos ou B. 406 Philips), on devra établir le montage avec le plus grand soin. Toutes les connections doivent être soudées, l'isolement aussi parfait que possible, et l'ensemble (cellule, résistance et triode) sera placé dans une boîte métallique mise à la terre.

« Les tensions (plaque, cellule, polarisation, grille, filament), seront fournies par des accumulateurs toujours en parfait état de charge. Car les plus petites variations dans ces tensions amènent dans le système une instabilité rendant les mesures impossibles.

« Toutes ces conditions sont du reste faciles à réaliser avec un peu de soin et, si elles sont bien remplies, elles procureront une amplification de l'ordre de  $10^{-5}$ , parfaitement proportionnelle.

« Ce n'est naturellement pas le courant de plaque lui-même qui est mesuré, mais seulement les variations sous l'influence du courant photo-électrique. Le courant de plaque, la cellule étant dans l'obscurité, est compensé par un circuit d'opposition constitué par un accumulateur et une boîte de résistance. On fait varier la valeur de la résistance de ce circuit jusqu'à l'annulation du courant plaque.

« La lecture des variations amplifiées du courant de plaque de la lampe triode à l'aide d'un galvanomètre présente plusieurs inconvénients dont le plus important est la longueur des mesures. De cette longueur découle la lenteur des lectures, la prolongation de l'exposition des substances à examiner aux rayons ultra-violet. Les lectures se font à l'aide d'un électromètre de Lindeman.

« Cet électromètre est peu encombrant, robuste et d'un maniement très commode. La période de son aiguille est de l'ordre d'une seconde. Toutefois, il est nécessaire de le faire précéder d'un amplificateur spécial dont nous empruntons la description au mémoire de MM. A. Chevallier et P. Dubouloz.

« Les deux points suivants le caractérisent :

« 1° Il est construit pour traduire les variations du courant photo-électrique, non plus en intensité, mais en variation de voltage ;

« 2° Le circuit de plaque n'ayant plus à débiter que des quantités d'électricité extrêmement faibles, il est possible de chauffer très peu le filament et d'utiliser des tensions de plaque atteignant seulement quelques volts. On gagne ainsi considérablement en stabilité pour toute une série de raisons, c'est ainsi que la

tension d'ionisation des gaz résiduels de l'ampoule n'étant pas atteinte, le courant de grille prend dans le domaine des potentiels négatifs des valeurs très faibles et biens constantes.

« La figure donne le schéma général du montage dont nous allons décrire les différents éléments.

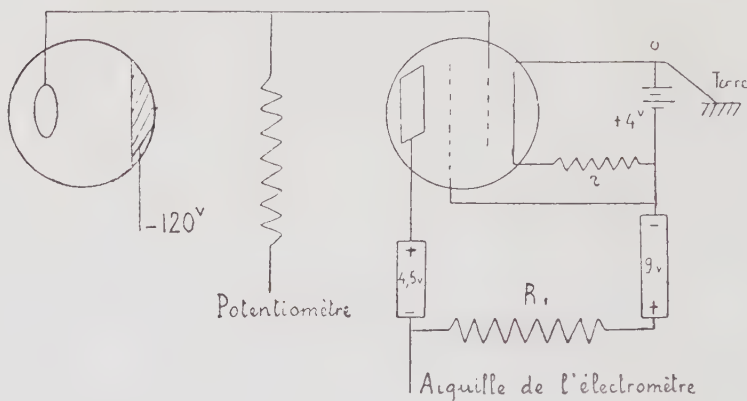


FIGURE 5

« La pièce essentielle en est une bigrille du type C. 150 Fotos, à grand facteur d'amplification :

« 1° Le circuit de chauffage comprend, outre le filament, un accumulateur de 4 volts et une résistance fixe d'environ 20°, dont la valeur exacte doit être adaptée aux caractéristiques de la lampe utilisée, comme nous le verrons plus loin ;

« 2° La grille est réunie à l'anode de la cellule et toutes deux sont reliées, par l'intermédiaire, de la résistance R<sub>2</sub>, à un potentiomètre. On utilise une résistance à alcool de 1.000 mégohms environ. Le potentiomètre doit pouvoir donner un voltage compris entre — 0,3 et — 0,7 volts environ, par millivolts ou mieux par dixièmes de millivolts. On doit renoncer aux contacts glissants ; il est plus sûr de le constituer par une boîte à décades de 1.000° et celle de 100° donne le potentiel variable. On laisse fixe le chiffre des milliers et l'on fait varier ceux des centaines, des dizaines et des unités ;

« 3° La grille auxiliaire est portée en permanence à 4 volts par la borne positive de l'accumulateur de chauffage ;

« 4° Le circuit de plaque comprend successivement l'accumulateur de chauffage ; une pile donnant 9 volts ; une résistance R ; une pile donnant 4 v. 5 et enfin la plaque ; la somme des potentiels en jeu est donc de 17 v. 5 ; mais on voit qu'en fait le potentiel de la plaque est voisin de 4 v. 5. La prise allant à l'aiguille de l'électromètre est fixée entre la seconde pile et la résistance R<sub>1</sub>. Celle-ci est une résistance à l'alcool de l'ordre de 100 mégohms ».

« Cette méthode présente donc une grande sensibilité et cette sensibilité, indépendante de la longueur d'onde, est identique dans toute l'étendue de l'ultra-violet, mais elle présente un autre avantage. Si on laisse la largeur de la fente de sortie constante depuis 4.000 jusqu'à 1.850 Å°, on observe que le courant photo-électrique est très sensiblement constant depuis 3.800 Å° jusqu'à 2.200 Å°.

On a, en somme, un immense plateau. Ce phénomène est dû à la compensation de deux variables allant en sens inverse. On a, d'une part, la dispersion du faisceau ultra-violet qui augmente dans le monochromateur au fur et à mesure que la longueur d'onde diminue. Ce qui fait, qu'en maintenant constante la fente de sortie, celle-ci limite un nombre de plus en plus restreint d'angströms. Mais, d'autre part, l'énergie émise par le tube de Chalonge est loin d'être constante avec la longueur d'onde. Elle augmente progressivement jusqu'à un maximum voisin de  $2.200 \text{ \AA}^0$ . Cette augmentation compense à peu près le facteur précédent, de telle sorte que si l'on représentait ce qui se passe pour le faisceau issu de la fente de sortie en portant en ordonnée l'énergie émise par angströms et en abscisse le nombre d'angströms limité, on aurait des rectangles de plus en plus étroits et allongés, mais dont la surface resterait sensiblement constante jusqu'à  $2.200 \text{ \AA}^0$ . Ceci est d'un très grand intérêt pour les mesures d'absorption. En effet, si l'on utilise un solvant comme l'hexane pur, dont l'absorption est très faible et en tous cas très régulière, on observera des valeurs de  $I_0$  qui seront presque invariables.

Il suffira donc, pour connaître l'absorption exprimée par  $\log I_0/I$  de mesurer la valeur de  $I_0$  en quelques points échelonnés le long du spectre. Quant à la valeur de  $I$ , elle sera observée aussi finement que l'on voudra, de 50 en 50, ou même de 25 en 25 angströms. Cette définition n'est limitée que par la dispersion du monochromateur et aussi par l'intensité observée ».

### Pratique de la méthode spectro-photométrique

L'extrait fluide d'hydrastis doit être préalablement suffisamment dilué pour permettre d'avoir une perméabilité suffisante aux radiations dans toute l'étendue du spectre, soit  $4000^0 \text{ \AA}^0$  à  $2500 \text{ \AA}^0$ .

Nous avons utilisé comme agent de dilution l'alcool à  $70^0$ , titre alcoolique indiqué par le Codex pour la préparation de cette forme galénique de l'hydrastis.

La détermination du spectre d'absorption se fait de la manière suivante :

1° On commence par amener sur le tambour du mono-chromateur la longueur d'onde pour laquelle on veut établir la mesure.

2° La cuve contenant la solution de l'extrait se trouvant en dehors du trajet des rayons, on fait une première lecture correspondant à l'intensité du faisceau incident pour la longueur d'onde considérée. Cette lecture se ramène à l'appréciation du déplacement de l'aiguille de l'électromètre lorsque le faisceau tombe de la fente d'entrée du mono-chromateur. L'aiguille ayant une inertie extrêmement faible, la position d'équilibre est obtenue d'une façon presque instantanée. On a ainsi la valeur de  $I^0$ .

3° On place la cuve sur le trajet du faisceau de rayons ultra-violet et on fait une nouvelle mesure qui donne cette fois la valeur de  $I$ .

Puis on recommence une série d'opérations en faisant défiler successivement toutes les longueurs d'onde pour lesquelles on veut connaître l'absorption.

Enfin, une série de mesures préliminaires analogues faites en utilisant la cuve pleine de solvant pur, permettent de connaître la valeur de  $\log. I_0/I$  par le système cuve-solvant. Il est bien évident que cette valeur doit être déduite de celle trouvée pour la solution, déduction faite pour chaque longueur d'onde considérée.

Nous indiquons ci-contre la disposition utilisée pour transcrire commodément les résultats.

Pour construire la courbe, on place alors en abscisse la longueur d'onde et en ordonnée la valeur finale de  $\log. I_0/I$  et on relie les points obtenus par un trait.

Dans le cas où nous serions amenés à opérer sur des concentrations différentes :

Les hauteurs étant proportionnelles aux concentrations, il suffira de ramener par le calcul ces diverses déterminations au même taux de dilution pour obtenir des valeurs comparables.

#### EXTRAIT D'HYDRASTIS G

| Longueur<br>d'onde<br>$A^\circ$ | $I_0$ | I    | $I_0/I$ | $\log. I_0/I$ | $\log. I_0/I$<br>Cuve solvant<br>alcool à $70^\circ$ | Absorption<br>pour une<br>dilution<br>1/2000<br>et une épais-<br>seur de 1 $cm$ |
|---------------------------------|-------|------|---------|---------------|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| 2500                            | 235   | 4,5  | 1800    | 1903          | 352                                                  | 1551                                                                            |
| 2600                            | 151   | 6    | 2520    | 1401          | 300                                                  | 1101                                                                            |
| 2700                            | 180   | 7    | 2570    | 1409          | 255                                                  | 1154                                                                            |
| 2800                            | 200   | 10   | 2000    | 1301          | 218                                                  | 1083                                                                            |
| 2900                            | 160   | 12   | 1330    | 1123          | 187                                                  | 936                                                                             |
| 3000                            | 175   | 21,5 | 815     | 911           | 160                                                  | 751                                                                             |
| 3100                            | 190   | 26   | 730     | 860           | 139                                                  | 724                                                                             |
| 3200                            | 205   | 20   | 1050    | 1021          | 120                                                  | 901                                                                             |
| 3300                            | 147   | 10   | 1470    | 1167          | 96                                                   | 1071                                                                            |
| 3400                            | 155   | 8    | 1940    | 1287          | 85                                                   | 1202                                                                            |
| 3500                            | 158   | 11   | 1430    | 1155          | 70                                                   | 1085                                                                            |
| 3600                            | 145   | 19   | 764     | 883           | 60                                                   | 823                                                                             |
| 3700                            | 167   | 67   | 249     | 396           | 50                                                   | 343                                                                             |
| 3800                            | 140   | 76   | 184     | 264           | 53                                                   | 211                                                                             |
| 3900                            | 210   | 125  | 168     | 225           | 53                                                   | 172                                                                             |
| 4000                            | 205   | 120  | 171     | 233           | 74                                                   | 162                                                                             |

Voici réunies en un tableau les courbes d'absorption entre 4000  $A^\circ$  et 2500  $A^\circ$  de six extraits fluides d'hydrastis parmi ceux étudiés. Dilution au 1/2000 dans l'alcool à  $70^\circ$ . Nous voyons la

courbe d'absorption propre du solvant portée sous la dénomination Alcool dans le tableau (fig. 6).

De l'observation de ces courbes, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

Entre 4000 A° et 2500 A°.

Les extraits fluides d'hydrastis présentent une courbe d'absorption à allure générale caractéristique, avec deux sommets, l'un pour 3450 A°, l'autre pour 2750 A° et un minimum très accusé pour 3050 A°.

Par conséquent :

1° L'obtention par la méthode spectrographique d'une telle courbe nous permet d'identifier une préparation alcoolique d'hydrastis canadensis.

2° Quelles sont les substances qui peuvent communiquer cette allure caractéristique à la courbe ?

Nous avons voulu tout d'abord déterminer quelle est l'influence de l'hydrastine et la berbérine dans cette courbe spectrographique.

Nous avons pour cela été amené à purifier nous-même par cristallisation dans l'alcool absolu et dessiccation ces alcaloïdes dans le vide sulfurique à l'obscurité. Cette purification est absolument indispensable, car nos premiers essais effectués sur les alcaloïdes provenant soit de notre réserve de laboratoire, soit de diverses maisons de produits chimiques, nous ont donné des résultats fort inconstants.

De ces alcaloïdes ainsi purifiés, nous avons ensuite préparé dans l'alcool à 70° des solutions types à la concentration de 1/10.000, sur lesquelles nous avons déterminé l'absorption.

Voici réunies sur un même tableau les courbes d'absorption de ces solutions. (fig. 7).

Nous avons constaté également que la courbe d'absorption de l'hydrastine purifiée par nous-même variait avec le temps et l'action de la lumière. Il faut donc opérer une solution immédiate de l'alcaloïde très récemment purifié.

Ce fait explique probablement les différences que nous trouvons dans nos mesures par rapport à celles effectuées par Steiner (71).

L'examen de ces courbes nous permet de constater :

1° Que les sommets de la courbe d'absorption de la berbérine correspondent à 3450 A° et à 2780 A° et coïncident avec les som-

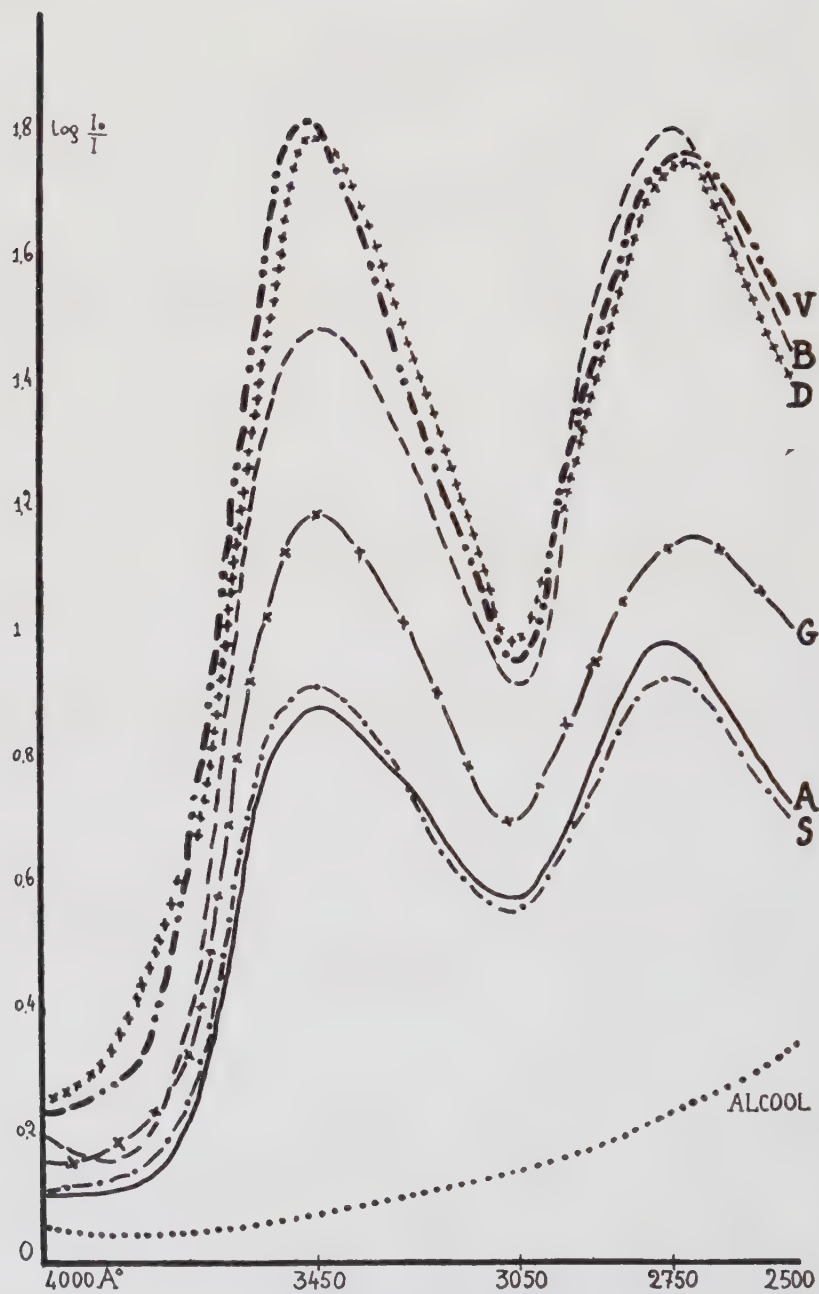


FIGURE 6

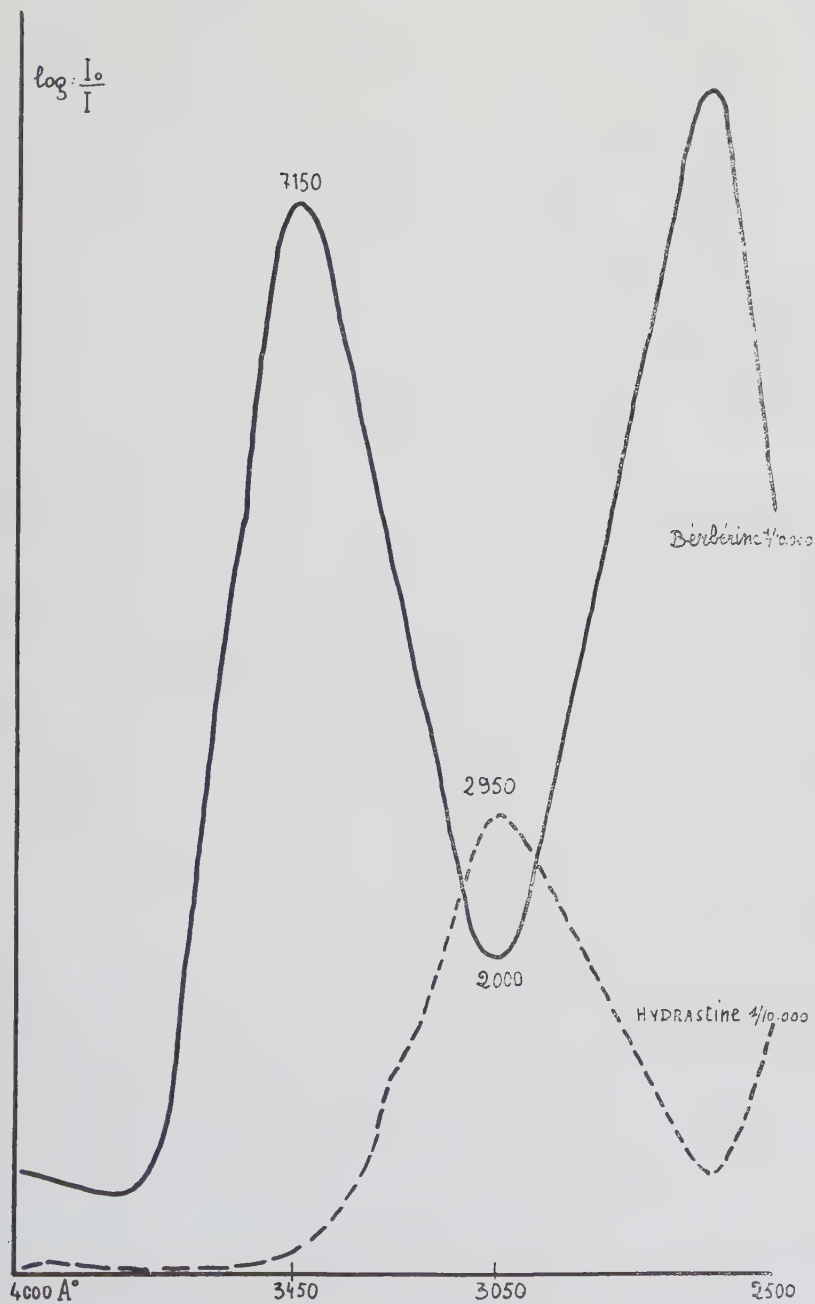


FIGURE 7

ments relevés sur la courbe d'absorption de l'extrait fluide d'hydrastis.

2° Que le minimum de la berbérine correspond à 3050 A° exactement comme le minimum pour l'extrait fluide.

3° Que l'hydrastine présente un maximum d'absorption pour 3050 A° correspondant au minimum d'absorption de la berbérine.

4° Que pour 3450 A° l'absorption de l'hydrastine est très faible et pratiquement négligeable par rapport à l'absorption de la berbérine pour cette même longueur d'onde.

N'y a-t-il pas d'autres substances dans l'extrait fluide d'hydrastis susceptibles de retentir sur l'examen spectrographique ?

Pour essayer de le déterminer, nous avons alcalinisé par la soude un extrait fluide « S<sup>2</sup> » et l'avons épuisé par de l'éther par agitation dans une ampoule à décantation.

Ces premières liqueurs éthérées d'épuisement sont fortement colorées en jaune, puis peu à peu la teinte s'atténue. L'épuisement est très long et nous n'avons pas réussi à réaliser une extraction totale de la berbérine, malgré les quantités énormes d'éther utilisé et le nombre considérable de lavages réalisés (pour 50 cm<sup>3</sup> d'extrait fluide d'hydrastis S<sup>2</sup> : 2 cm<sup>3</sup> de lessive de soude et 5 litres d'éther employés en 10 lavages de 500 cm<sup>3</sup> chaque).

Le résidu est encore fortement coloré en brun. Nous avons effectué à partir de ce résidu une dilution au 1/2000 dans l'alcool à 70°, dont nous avons déterminé la courbe d'absorption.

La courbe d'absorption a été également déterminée pour l'extrait initial S<sup>2</sup> dilué dans les mêmes conditions au 1/2000 dans le même alcool à 70°.

Nous voyons que le résidu d'épuisement donne une courbe fortement aplatie par rapport à celle de l'extrait S<sup>2</sup> initial. Son allure générale est celle de la courbe de l'extrait total. (fig. 8).

Cependant, cette courbe par ses deux sommets pour 3450 A° et 2750 A° témoigne de la présence de berbérine non extraite.

Si donc quelques constituants extractifs de l'extrait fluide d'hydrastis pouvaient manifester une action sur l'analyse spectrographique de cette préparation, cette action serait parallèle à celle des constituants alcaloïdiques.

Nous allons voir, par notre méthode de dosage spectrographique de l'hydrastine et de la berbérine, que la ligne de fond de ces constituants extractifs est pratiquement négligeable dans la limite des longueurs d'onde utilisées.

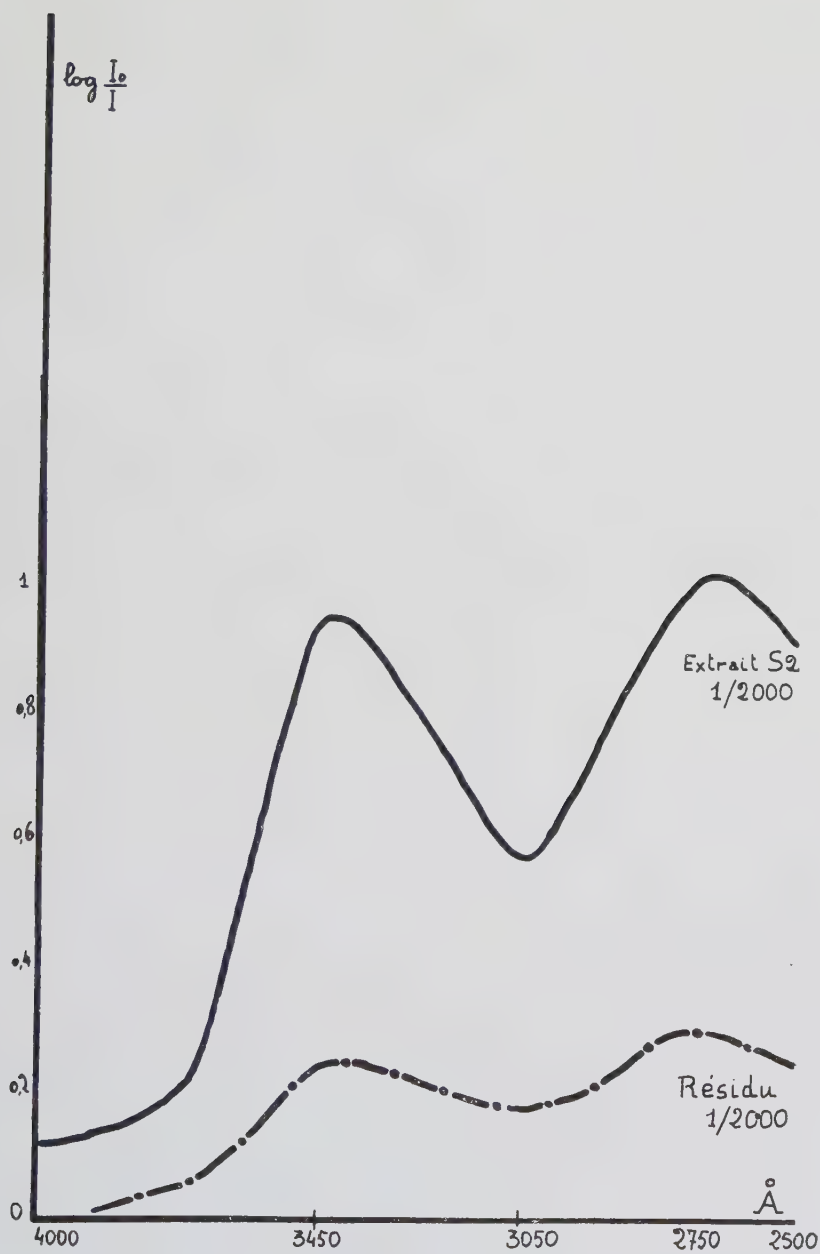


FIGURE 8

### Dosage de la berbérine et de l'hydrastine

Dans les mesures spectro-photométriques, comme il est démontré, toutes choses restant égales d'ailleurs, sauf la concentration de la solution à examiner, la courbe pour cette nouvelle concentration se situe à une hauteur en ordonnée proportionnelle à la variation de cette concentration.

Nous avons pu très facilement doser la berbérine en solution pure en mesurant la hauteur en ordonnée correspondant à  $\log. I_0/I$  pour une longueur d'onde de  $3450 \text{ \AA}$ .

Nous avons pris comme étalon la hauteur en ordonnée pour  $3450 \text{ \AA}$  correspondant au  $\log. I^0/I$  pour une solution au  $1/10.000$  de berbérine purifiée dans l'alcool à  $70^\circ$ . Cette hauteur, correction faite de l'absorption due au solvant, est de  $\log. I_0/I = 7.150$ .

Pour une solution de berbérine de titre inconnu, nous déterminerons le  $\log. I_0/I$  à  $3450 \text{ \AA}$ . Toutes corrections effectuées, une simple règle de proportion nous donnera la teneur en berbérine de cette solution.

Nous avons également pu, comme d'ailleurs l'indique Steiner, doser l'hydrastine par un processus analogue.

Nous avons pris comme étalon la hauteur en ordonnée pour  $3050 \text{ \AA}$  correspondant au  $\log I_0/I$  pour une solution à  $1/10.000$  de l'hydrastine purifiée et récemment préparée dans l'alcool à  $70^\circ$ .

Cette hauteur, toute correction faite, est de  $\log. I_0/I = 2.950$ .

Il nous restait à voir comment nous pourrions utiliser cette méthode spectro-photométrique pour le dosage d'un mélange de berbérine et d'hydrastine.

Nous avons réuni sur le tracé suivant les déterminations qui nous ont permis d'arriver à la réalisation de ce dosage (fig. 9).

Nous avons étudié l'absorption :

1° d'une solution de berbérine de titre : a ;

2° d'une solution d'hydrastine de titre : b ;

3° d'une solution berbérine-hydrastine de titre : a + b.

Nous observons pour cette solution (mélange Ber + Hyd) un relèvement général de la courbe ; pour chaque longueur d'onde, les hauteurs d'absorption dues, d'une part à la berbérine et d'autre part à l'hydrastine s'additionnent.

Tout se passe comme si la ligne des abscisses de l'hydrastine dans le mélange subissait un déplacement théorique et venait s'éta-

blir en O' sur la ligne des ordonnées. Cette hauteur O. O' correspondant à la hauteur minima de la courbe d'absorption de la berbérine qui, nous l'avons vu, se produit pour 3050 A°.

Or, à une longueur d'onde de 3050 A° correspond également le point le plus haut de la courbe d'absorption de l'hydrastine, point qui nous a servi d'étalon pour le dosage des solutions pures d'hydrastine.

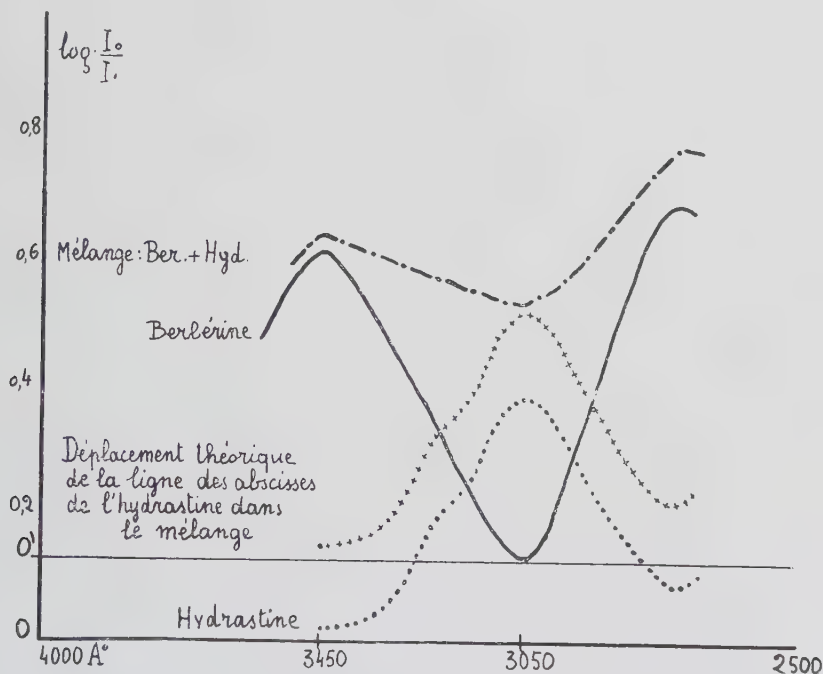


FIGURE 9

En définitive, pour une longueur d'onde de 3050 A°, le point d'absorption minimum de la berbérine examinée isolément se trouve, dans le cas du mélange Ber + Hyd, être refoulé au-dessus de sa position réelle par rapport à la ligne des abscisses d'une hauteur en ordonnée égale à la hauteur du point maximum de l'hydrastine considérée isolément.

Or, notre solution étalon de la berbérine à 1/10.000 dans l'alcool à 70° nous indique que pour 3050 A° ce point  $\log. I_0/I = 2000$ .

Nous pouvons donc, pour une dilution au 1/10.000 :

Après avoir déterminé le point maximum de la berbérine située à 3450 A° et qui est très peu influencé par l'absorption de

l'hydrastine, calculer très facilement la hauteur théorique du point minimum de cette berbérine.

7150, point maximum étalon, correspond à 2000, point minimum étalon.

Comme le point maximum déterminé « x » correspondra à « Y » point minimum à connaître :

$$\begin{aligned} \text{Soit } \frac{7150}{2000} &= \frac{x}{y} \\ \text{soit } 3,57 &= \frac{x}{y} \\ \text{soit } y &= \frac{x}{3,57} \end{aligned}$$

Nous calculerons ensuite pour 3050 A° la différence entre le point réellement obtenu dans la détermination et ce point théorique calculé.

Cette différence correspond à la hauteur d'absorption maximum pour la quantité d'hydrastine contenue dans le mélange hydrastine + berbérine.

Connaissant cette hauteur, nous retombons dans le cas du dosage d'une solution pure d'hydrastine. Un simple calcul de proportionnalité nous donnera la quantité d'hydrastine contenue dans le mélange.

#### **Dosage de la berbérine et de l'hydrastine dans l'extrait fluide d'hydrastis**

Pour pratiquer ce dosage, nous effectuons à l'aide d'un alcool à 70° une dilution à 1/2000 de l'extrait fluide d'hydrastis à titrer.

Cette dilution est soumise à l'examen spectro-photométrique et nous déterminons l'absorption pour 3450 A° (maximum) et pour 3050 A° (minimum), toutes corrections faites.

Nous calculons par une simple division par 5 les positions respectives qu'occuperaient ces points pour une dilution à 1/10.000.

Soit a = le log. I<sub>0</sub>/I de la berbérine pour 3450 A° ;

Soit c = log. I<sub>0</sub>/I du mélange berbérine + hydrastine pour 3050 A° ;

Soit b = log. I<sub>0</sub>/I pour 3050 A° calculé par rapport à « a ».

Nous aurons :

$$b = \frac{a}{3,57}$$

$$\frac{a \times 100}{7150} = \text{berbérine pour cent grammes fluide}$$

$$\frac{(c - b) \times 100}{2950} = \text{hydrastine pour cent grammes d'extrait fluide.}$$

Représentation graphique des rapports qui existent entre les hauteurs des étalons de berbérine et d'hydrastine et les hauteurs obtenues dans la mesure de nos extraits fluides pour une même dilution à 1/10. 000. (fig. 10).

CE TABLEAU EXPRIME LES RESULTATS OBTENUS POUR LES  
EXTRAITS FLUIDES D'HYDRASTIS EXAMINES

| Extrait              | 3450 A°<br>log. I <sub>0</sub> /I = a | Berbérine %<br>$\frac{a \times 100}{7.150}$ | 3050 A°<br>$\frac{a}{3,57} = b$ | Log.<br>I <sub>0</sub> /I = C | Hydras-<br>tine %<br>$\frac{(C - b) 100}{2950}$ |
|----------------------|---------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------------------|
| A .....              | 176                                   | 2.40                                        | 49,2                            | 119                           | 2.34                                            |
| B .....              | 304                                   | 4.90                                        | 85                              | 185                           | 3.40                                            |
| C .....              | 215                                   | 3                                           | 60                              | 157                           | 3.29                                            |
| V .....              | 360                                   | 5.04                                        | 100,8                           | 192                           | 3.10                                            |
| D .....              | 360                                   | 5.04                                        | 100,8                           | 196,4                         | 3.24                                            |
| R .....              | 429                                   | 6.00                                        | 120                             | 203                           | 2.82                                            |
| G .....              | 240                                   | 3.25                                        | 67                              | 140                           | 2.47                                            |
| S .....              | 184                                   | 2.57                                        | 51.5                            | 112                           | 2.03                                            |
| S <sup>1</sup> ..... | 184                                   | 2.57                                        | 51.5                            | 112                           | 2.03                                            |
| S <sup>2</sup> ..... | 192                                   | 2.68                                        | 53                              | 115                           | 2.10                                            |

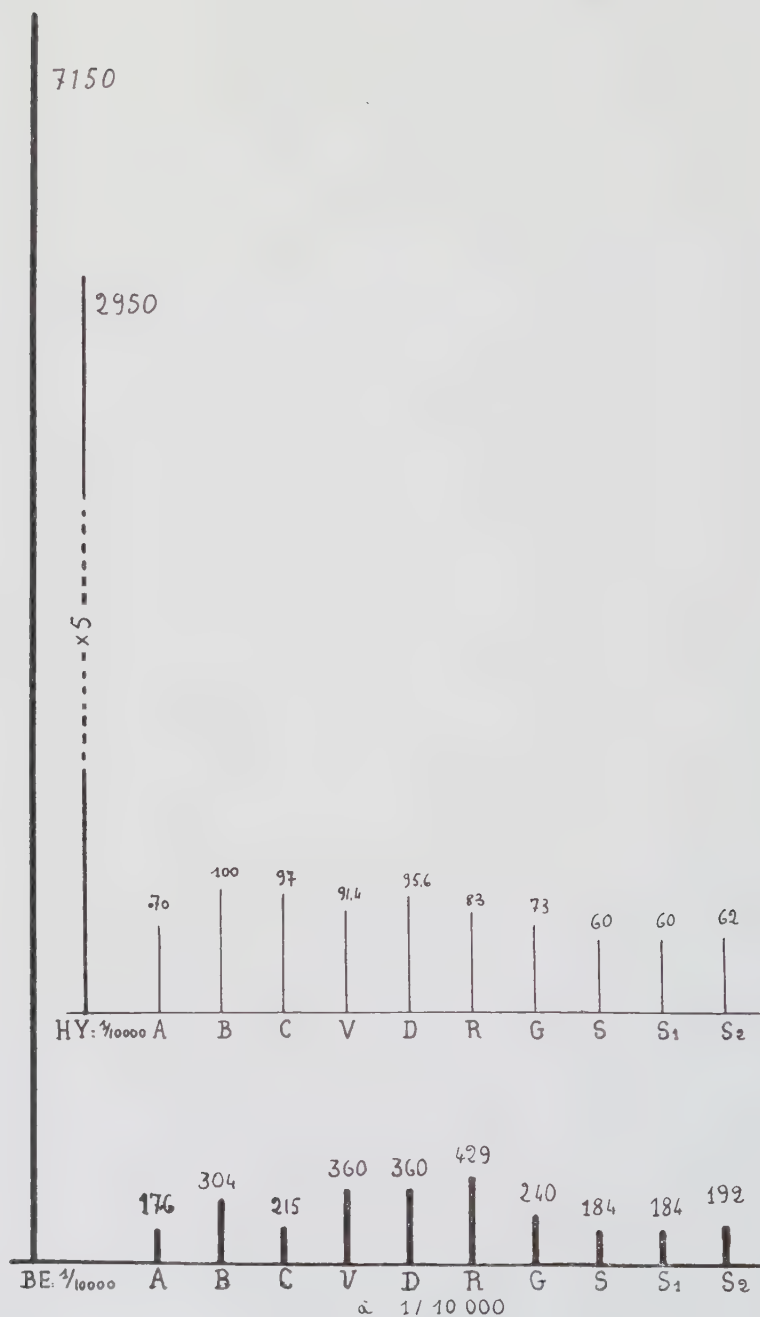


FIGURE 10

# DOSAGE BIOLOGIQUE DE L'HYDRASTINE

---

## I. — Principe de la méthode

Avant d'aborder l'étude proprement dite du dosage biologique de l'extrait fluide d'hydrastis, nous devons indiquer très sommairement les phénomènes que l'on observe lorsqu'on administre par voie intra-veineuse des quantités convenables de cette préparation, au chien chloralosé, sur lequel on étudie le fonctionnement de divers appareils. C'est ainsi que si l'on enregistre les mouvements respiratoires par le pneumographe de Tournade, les variations du volume du rein à l'aide de l'oncographe de Hallion et Comte, les mouvements de l'intestin « in situ » par la méthode du ballon et les variations de la pression artérielle à l'aide du manomètre de Ludwig et qu'on injecte à l'animal ainsi préparé une quantité convenable (1 cm<sup>3</sup> p. kg) de l'extrait fluide d'hydrastis (de pH : 5, par exemple), on observe, comme le montre la planche I :

Une accélération respiratoire avec augmentation de l'amplitude des mouvements ;

Une chute du volume du rein ;

Un spasme intestinal suivi d'une baisse de tonus et de l'arrêt des mouvements ;

Une chute notable de la pression artérielle.

Tous ces phénomènes sont bien connus et ils sont dus, pour les doses injectées, à l'action prépondérante de l'hydrastine, mais aucun d'eux ne peut être pratiquement utilisé pour un dosage biologique, du moins sur l'animal entier.

En effet, on pouvait, à priori, songer, pour le dosage physiologique de l'extrait d'hydrastis, à déterminer la quantité de cette préparation qui aurait provoqué chez le chien chloralosé un des phénomènes que nous avons observés ou encore la mort de l'animal, comme dans les méthodes dites de perfusion. Mais cette technique nécessiterait de grandes quantités de préparation et surtout les résultats en seraient infidèles à cause des grandes variations d'effet constatées d'un animal à l'autre. Nous avons employé la méthode récemment décrite par le Professeur F. Mercier (72). Nous venons

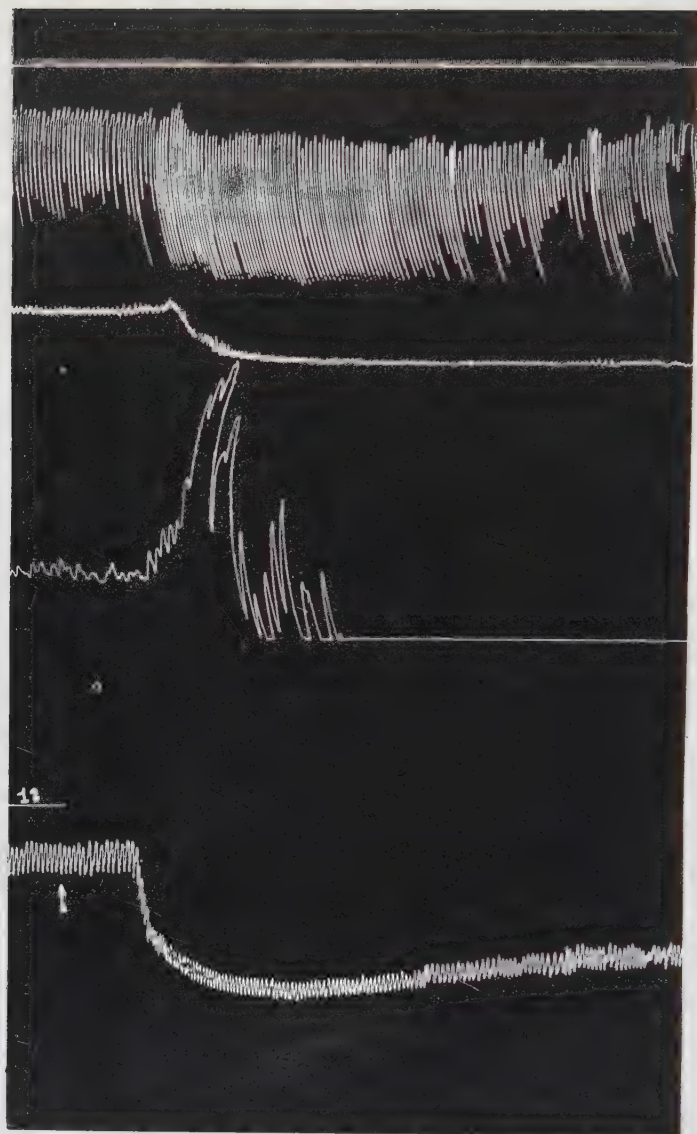


PLANCHE I

**Action d'un extrait fluide d'hydrastis (de pH = 5)  
administré par voie intra-veineuse chien 9 kg. 560 (chloralosé 0,11 p.k.)**

1<sup>re</sup> ligne, temps en secondes; 2<sup>me</sup> ligne, pneumogramme; 3<sup>me</sup> ligne, oncogramme du rein droit, 4<sup>me</sup> ligne, mouvements de l'intestin « in situ » enregistrés par le procédé du ballon; 5<sup>me</sup> ligne, pression carotidienne enregistrée par le manomètre à mercure; à la flèche : injection intra-saphène de 1 cm<sup>3</sup> p.k. (9 cm<sup>3</sup> 5) de l'extrait fluide d'hydrastis de pH = 5. Accélération respiratoire; constriction rénale; spasme intestinal suivi de relâchement et d'arrêt; hypotension rapide et notable. *Tracé réduit de moitié.*

de voir que sur l'intestin « en place » du chien chloralosé l'extrait d'hydrastis administré par voie endo-veineuse provoque, après un spasme plus ou moins marqué, selon les doses et les animaux, une chute du tonus et l'arrêt des mouvements automatiques sur ce même organe « isolé », c'est-à-dire maintenu artificiellement ; en survie, le phénomène observé est semblable, mais le spasme intestinal ne se produit pour ainsi dire jamais.

La technique du Professeur F. Mercier est une application de la méthode que J. Lévy et O. Gaudin (73) ont décrite pour la narcotine, alcaloïde chimiquement très voisin de l'hydrastine : elle consiste essentiellement à prélever sur l'animal endormi un fragment d'intestin grêle qui sera utilisé grâce à l'appareil suivant, dont nous empruntons la description à J. Lévy (74) :

« Il se compose essentiellement d'un thermostat chauffé au gaz et muni d'un régulateur dans lequel plongent deux éprouvettes, dont la capacité est de 75 ou 90 cm<sup>3</sup>. (Nous avons utilisé des éprouvettes de 100 cm<sup>3</sup>). Celles-ci sont remplies d'une solution de Tyrode et destinées à recevoir les organes isolés (en l'espèce, les fragments d'intestin). Ces éprouvettes communiquent par des robinets situés à leur partie inférieure avec un réservoir de liquide de Tyrode placé également dans le thermostat et maintenu à température constante. A la partie supérieure de chaque éprouvette, au niveau du trait de jauge, affleure un siphon. Ce dispositif permet de renouveler complètement le liquide après une expérience et de laver l'éprouvette avec 4 à 5 fois son volume de Tyrode s'écoulant de bas en haut d'une façon uniforme.

« Un tube en verre effilé et recourbé en crochet pénétrant dans l'éprouvette laisse passer bulle à bulle un courant d'air qui oxygène le liquide. L'organe dont on étudie les mouvements est fixé par son extrémité inférieure à ce tube et la résultante de ses mouvements est transmise par un fil de soie à un levier très léger, que l'on équilibre au moyen d'un petit poids. Les mouvements sont ainsi amplifiés 4 à 5 fois environ et enregistrés verticalement sur un cylindre enregistreur (modèle Boulitte) tournant à une vitesse telle que 50 cm de papier se déplacent en 90 minutes. La température du thermostat est maintenue à 38° à l'aide d'un régulateur à gaz et ne varie pas de 1/10° de degré ; pendant toute l'expérience on contrôle à chaque instant la température du bain à l'aide d'un thermostat qui est fixé à demeure ».

F. Mercier a ainsi étudié l'action de l'hydrastine, celle de la

berbérine et de leur mélange en diverses proportions. Les résultats que nous résumons ici lui ont montré que le chlorhydrate d'hydrastine est actif sur l'intestin isolé à partir d'une concentration de  $1/25000$ , c'est-à-dire qu'il est alors capable de provoquer une chute de tonus et une diminution de l'amplitude des mouvements péristaltiques.

L'action est naturellement proportionnelle aux quantités d'alcaloïdes injectées : à la concentration de  $1/25000$  (8 mg d'hydrastine dans 100 cc de Tyrode), la chute de tonus est marquée et l'amplitude des mouvements décroît considérablement pour  $1/10.000$ , les mouvements sont arrêtés, mais cet arrêt n'est pas irréversible, alors qu'à la concentration de  $1/5000$  ils ne reprennent qu'après lavage.

Pour la berbérine il faut arriver aux concentrations de  $1/10.000$  et mieux encore, de  $1/5000$ , pour obtenir des effets plus variables, mais en quelque sorte inverses de ceux provoqués par l'hydrastine : on observe généralement une stimulation de l'intestin qui se traduit par une augmentation du tonus et de l'amplitude des mouvements.

On pouvait penser qu'additionnée à l'hydrastine, la berbérine en neutralisait, au moins partiellement, les effets ; il n'en est rien, et bien au contraire, comme cela s'observe souvent en pharmacodynamie, la berbérine semble mordancer l'action de l'hydrastine : c'est ainsi qu'à la concentration de  $1/12500$  l'hydrastine seule ne provoque que rarement l'arrêt temporaire des mouvements intestinaux, alors que mélangée à une même dose ou à une dose double de berbérine, cet arrêt se produit toujours.

Ayant ainsi admis que dans les mélanges hydrastine-berbérine (la concentration de ce dernier alcaloïde ne dépassant pas  $1/5000$ ), la quantité de 8 mg de chlorhydrate d'hydrastine répandu dans 100 cm<sup>3</sup> de Tyrode et correspondant à une concentration de  $1/12500$  était nécessaire et suffisante pour provoquer l'arrêt temporaire des contractions de l'intestin isolé du chien chloralosé ; F. Mercier a utilisé ces résultats pour le dosage biologique des solutions du mélange hydrastine-berbérine.

Le tableau suivant que nous reproduisons donne, pour les expériences effectuées avec quatre solutions, chacune ayant nécessité au moins quatre mesures, la valeur mathématique de cette méthode :

| Solution | Titre théorique | Quantité moyenne produisant l'arrêt | Titre trouvé en hydrastine | Erreur % |
|----------|-----------------|-------------------------------------|----------------------------|----------|
| A .....  | 0,83 %          | 0 cm <sup>3</sup> 9                 | 0,88 %                     | 6        |
| B .....  | 1,25 %          | 0 cm <sup>3</sup> 55                | 1,45 %                     | 16       |
| C .....  | 1               | 0 cm <sup>3</sup> 8                 | 1                          | 0        |
| D .....  | 1,66 %          | 0 cm <sup>3</sup> 5                 | 1,6                        | 3,6      |

L'erreur moyenne calculée ne dépasse pas 7 %, chiffre très satisfaisant pour un dosage biologique.

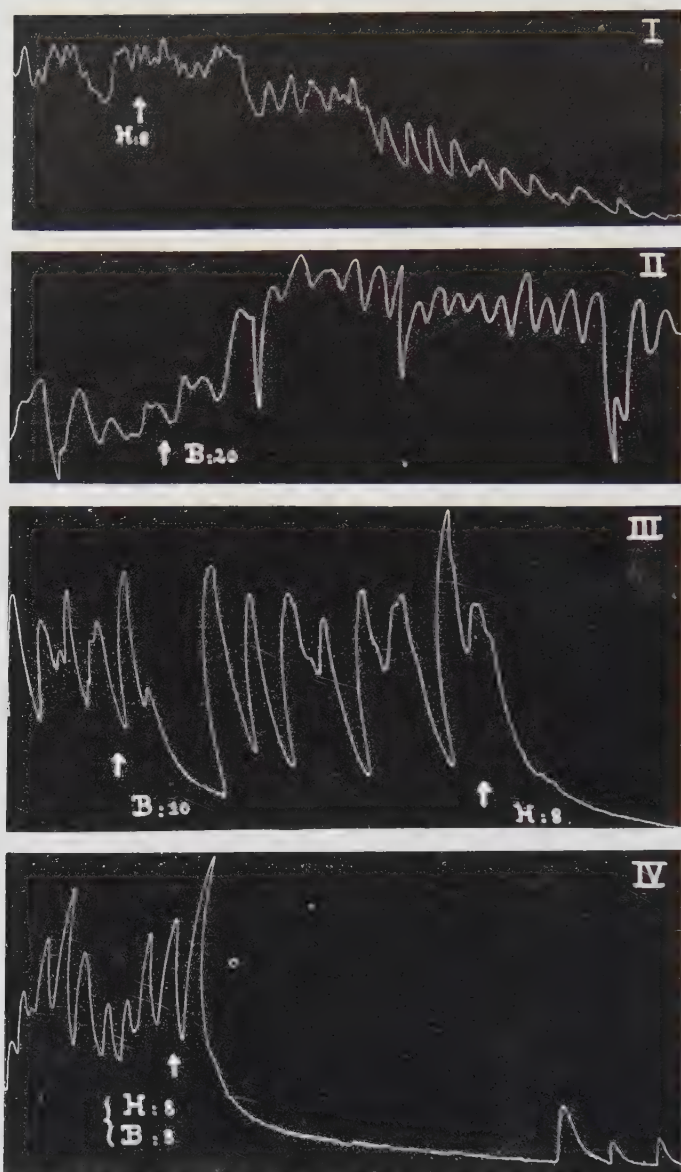
La planche II, empruntée à la note de F. Mercier, montre dans ses principales modalités l'action de l'hydrastine, de la berbérine et de leurs mélanges sur l'intestin isolé du chien chloralosé.

Signalons en terminant, que des recherches analogues effectuées en utilisant l'intestin du lapin ont montré des résultats tout à fait comparables à ceux obtenus avec ce même organe du chien.

## II. — Application de la méthode au dosage biologique de l'extrait fluide d'hydrastis

C'est cette technique expérimentale que nous avons utilisée en collaboration avec F. Mercier (75) pour le dosage biologique de l'extrait fluide d'hydrastis. En effet, l'hydrastine et la berbérine en sont les principes actifs les plus importants et nous venons de voir qu'ils agissent dans le même sens lorsqu'ils sont mélangés, comme c'est le cas pour cette préparation galénique.

Dans les premières expériences que nous avons réalisées pour éliminer une action possible de l'alcool contenu dans l'extrait et pour empêcher la précipitation qui pourrait se produire lorsqu'on ajoute directement cette préparation dans le liquide Tyrode, nous l'avons évaporée et nous avons dissous le résidu de cette évaporation dans une eau très légèrement acidulée par l'acide chlorhydrique. La liqueur ainsi obtenu, qui renferme la totalité de l'hydrastine, a été injectée en quantité convenable dans la solution nourricière de l'intestin isolé. Mais cette technique est un peu longue et surtout des expériences ultérieures nous ont montré qu'il n'y avait pas grand inconvénient à ajouter directement l'extrait fluide dans le Tyrode, à condition que la légère précipitation qui se produit à ce moment ne soit pas trop abondante (nous n'avons jamais injecté plus de 0,5 cm<sup>3</sup> d'extrait).



## PLANCHE II

Action de l'hydrastine, de la berbérine et de leurs mélanges  
sur l'intestin isolé du chien chloralose

Fig. I : Addition au liquide de Tyrode de 8 mg. de chlorhydrate d'hydrastine (Houdé). Fig. II : Addition au liquide de Tyrode de 20 mg. de chlorhydrate de berbérine Merk. Fig. III : Addition au liquide de Tyrode d'abord de 10 mg. de chlorhydrate de berbérine, puis 8 mg. de chlorhydrate d'hydrastine. Fig. IV : Addition au liquide de Tyrod d'un mélange de 8 mg. de chlorhydrate de berbérine et de 8 mg. de chlorhydrate d'hydrastine. Tracés réduits de moitié.

Nous avons adopté comme dose standard d'hydrastine le chiffre de 8 mg (dans 100 cm<sup>3</sup> de liquide) comme étant la quantité suffisante pour arrêter temporairement les contractions intestinales. Lorsque nous aurons ainsi une quantité d'extrait fluide telle que les mouvements automatiques de l'intestin isolé s'arrêtent, nous saurons que cette dose d'extrait fluide contenait 8 mg d'hydrastine.

Nous nous sommes demandé si l'alcool contenu dans l'extrait et introduit avec lui dans la solution nourricière ne produisait pas une action physiologique susceptible de troubler nos résultats ; l'extrait fluide d'hydrastis possède un titre d'alcool qui est de 50° en moyenne, et si l'on rapporte ce chiffre aux quantités d'hydrastine nécessaires pour provoquer l'arrêt intestinal (l'extrait officinal doit titrer 2 gr. % d'hydrastine), on constate que la proportion d'alcool à 50° introduite dans le Tyrode ne dépasse pas, en aucun cas, 1/2 cm<sup>3</sup> : or, nous avons constaté que cette dose, et même des doses plus élevées (3/4 cm<sup>3</sup>), ne produisent pas de modifications appréciables de tonus et des mouvements de l'intestin isolé. Il faut arriver à injecter 2-3 cm<sup>3</sup> d'alcool pour qu'un effet dépresseur se manifeste, les quantités plus faibles étant plutôt stimulantes. Ces notions sont illustrées par la planche III.

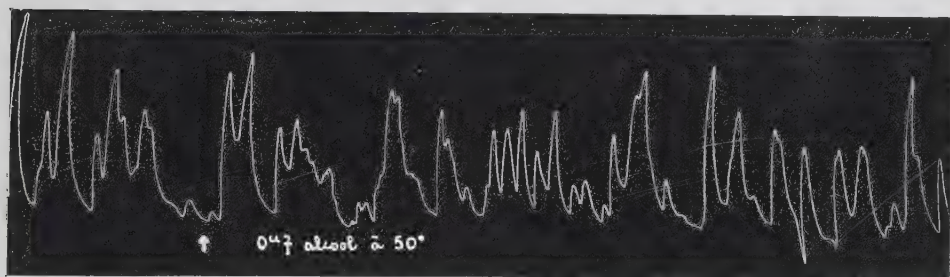


PLANCHE III

**Action de l'alcool à 50° sur les mouvements de l'intestin isolé du chien chloralosé**

*A la flèche : Addition au liquide de Tyrode de 0 cm<sup>3</sup> 7 d'alcool à 50°. Pas de modifications appréciables dans le tonus et les mouvements. Tracé réduit de moitié.*

Les graphiques qui illustrent cet exposé sommaire nous montrent : pour la planche IV, l'action des doses insuffisantes d'un extrait d'hydrastis (de type V) : on remarquera après l'injection une baisse notable du tonus de l'organe, mais les mouvements péristaltiques ne s'arrêtent pas, ils sont simplement ralentis pendant un court instant, puis ils reprennent progressivement.

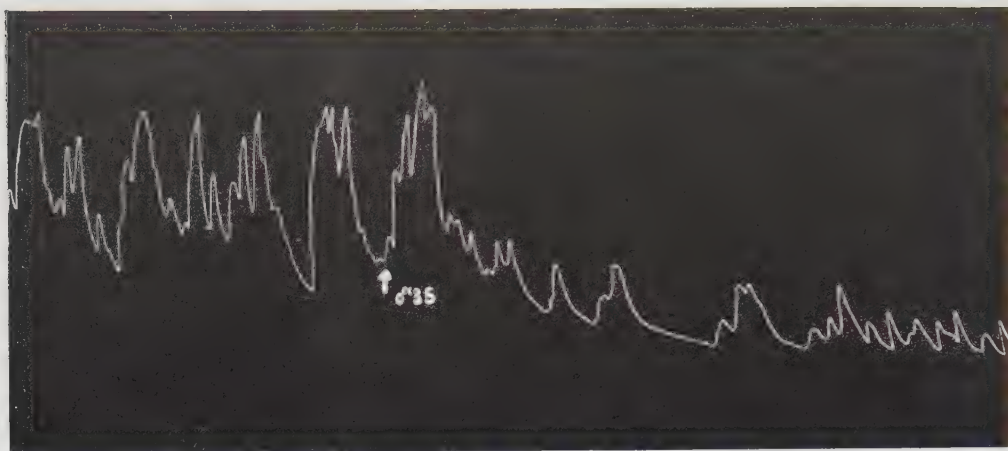


PLANCHE IV

**Action d'un extrait fluide d'hydrastis (de type V) à dose insuffisante  
sur l'intestin isolé du chien chloralosé**

*A la flèche : Injection dans le liquide de Tyrode de 0 cm<sup>3</sup> 35 de l'extrait. Baisse  
du tonus sans arrêt véritable des mouvements. Tracé réduit de moitié.*

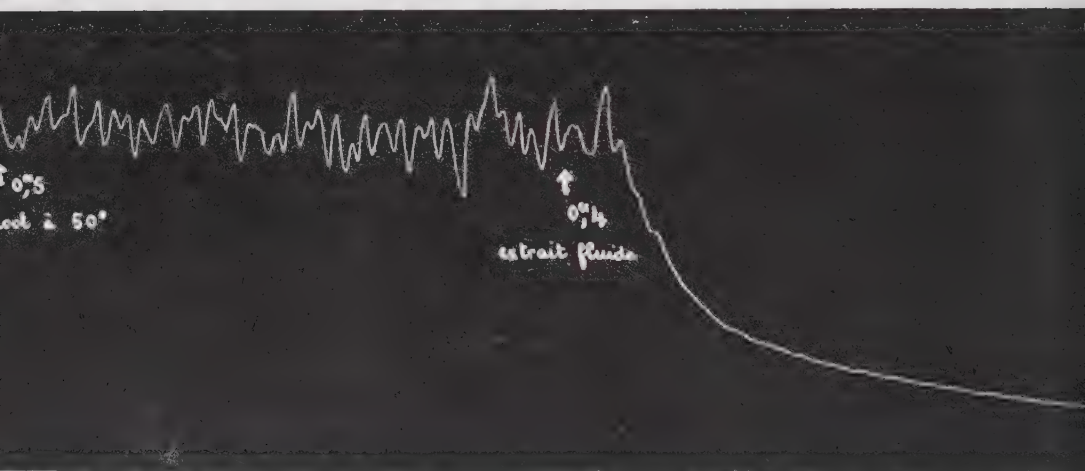


PLANCHE V

**Action d'un extrait fluide d'hydrastis à dose trop élevée  
sur l'intestin isolé du chien chloralosé**

*A la flèche de droite, injection dans le liquide de Tyrode de 0 cm<sup>3</sup> 4 d'extrait  
fluide. La flèche de gauche indique l'addition au liquide nourricier de 0 cm<sup>3</sup> 5  
d'alcool à 50°. Arrêt des mouvements sans reprise, chute considérable du  
tonus. L'injection préalable d'alcool n'a pas modifié l'allure de la courbe.  
Tracé réduit de moitié.*

La planche V nous montre, au contraire, l'action d'un extrait d'hydrastis (extrait fluide), à dose considérée comme trop élevée : on observe, en effet, une chute brutale du tonus et un arrêt total et prolongé des contractions intestinales ; celles-ci sont néanmoins susceptibles de reprendre après lavage, mais nous devons rappeler ici que nous avons convenu que les mouvements devaient reprendre d'eux-mêmes pour réaliser le test recherché. Remarquons encore, à propos de ce tracé, qu'une administration préliminaire d'un 1/2 cm<sup>3</sup> d'alcool à 50° ne paraît pas modifier l'allure de la courbe.

La planche VI et les planches suivantes nous montrent l'action optima que nous avons recherchée ; baisse du tonus et arrêt réversible des mouvements ; c'est le phénomène que nous avons considéré comme le test positif d'action correspondant à 8 mg d'hydrastine dans 100 cm<sup>3</sup> de liquide de Tyrode.

Ainsi, nous n'avons qu'à faire varier la nature de l'extrait et par le moyen biologique nous déterminerons quelle est sa teneur en hydrastine : c'est ce que nous avons réalisé pour un certain nombre d'extraits d'origine diverse, et nous résumons dans le tableau suivant les chiffres qui nous ont été fournis par cette méthode avec, en regard, ceux que nous ont donnés l'analyse chimique :

| Nature de l'extrait | Nombre d'expériences réalisées | Titre en hydrastine                    |                                   | Erreur |           |
|---------------------|--------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------|--------|-----------|
|                     |                                | déterminé par la méthode physiologique | déterminé par la méthode chimique | totale | pour cent |
| A                   | 8                              | 1.84                                   | 2.12                              | 0.28   | 15        |
| B                   | 4                              | 1.7                                    | 3.30                              | 1.6    |           |
| C                   | 4                              | 2.8                                    | 3.20                              | 0.4    | 14        |
| V                   | 4                              | 1.7                                    | 2.99                              | 1.29   |           |
| G                   | 7                              | 2.45                                   | 2.55                              | 0.10   | 3,9       |
| S <sup>1</sup>      | 4                              | 2.08                                   | 2.08                              | 0.00   | 0         |
| D                   | 4                              | 3.10                                   | 3.10                              | 0.00   | 0         |
| R                   | 4                              | 2                                      | 2.70                              | 0.70   |           |
| S <sup>2</sup>      | 10                             | 2.20                                   | 1.96                              | 0.24   |           |
| S <sup>3</sup>      | 6                              |                                        | 1.92                              |        |           |

Dans l'ensemble, les résultats de nos essais biologiques des extraits d'hydrastis sont très satisfaisants. Pour certains d'entre eux, il y a concordance entre les chiffres fournis par le dosage chimique et par l'essai biologique. Pour d'autres extraits, les deux

chiffres divergent plus ou moins : la moyenne de l'erreur fournie par l'essai biologique est de 14 % calculée sur 7 chiffres différents avec, comme chiffres extrêmes, 3 % et 25 %.

Deux extraits nous ont donné des résultats défavorables.

Signalons ici que la planche IX montre l'action de l'extrait fluide (S) repris par l'eau et que cette action se montre analogue à celle de l'extrait (S) lui-même, les principes actifs de la préparation ayant passé dans l'eau chaude.

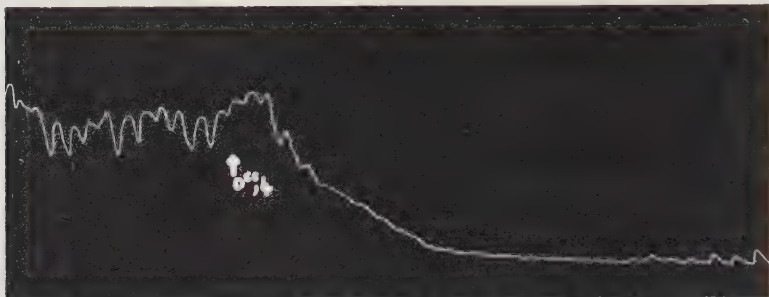


PLANCHE VI

Action d'un extrait fluide (de type A) sur l'intestin isolé  
du chien chloralosé

A la flèche : Addition dans le liquide de Tyrode de 0 cm<sup>3</sup> 4 d'extrait fluide.  
Chute du tonus et arrêt réversible des mouvements. *Tracé réduit de moitié.*

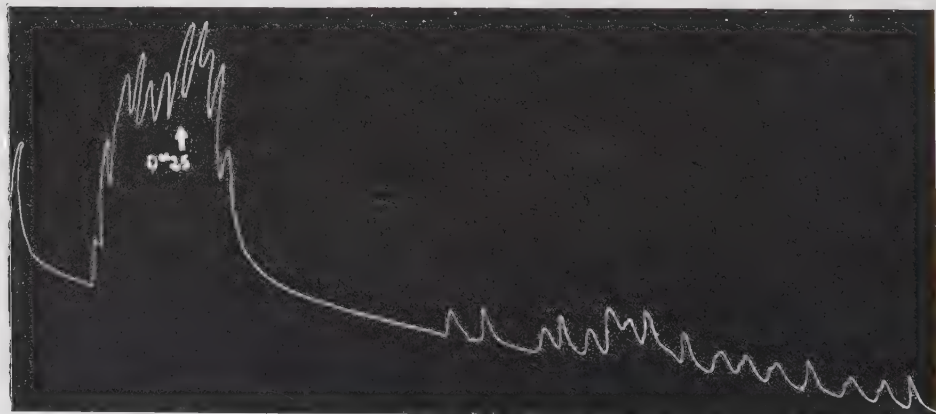


PLANCHE VII

Action d'un extrait fluide d'hydrastis (de type D)  
sur l'intestin isolé du chien chloralosé

A la flèche : Addition dans le liquide de Tyrode de 0 cm<sup>3</sup> 25 d'extrait. Chute du tonus et arrêt réversible des mouvements. *Tracé réduit de moitié.*

En conclusion, nous pensons que le test de l'intestin isolé chez le chien chloralosé peut être utilisé pour l'essai biologique des extraits fluides d'hydrastis ; la méthode que nous avons employée est très simple et peut fournir, sur la teneur en hydrastine d'un extrait fluide d'hydrastis, des renseignements qui peuvent être très utiles aux pharmacologues.

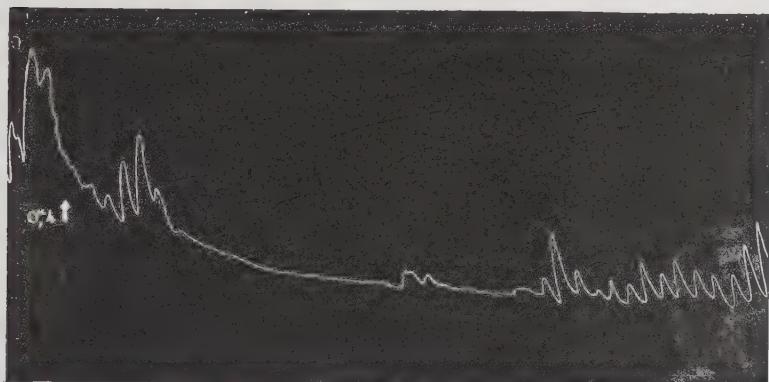


PLANCHE VIII

**Action d'un extrait fluide d'hydrastis (de type S)  
sur l'intestin isolé du chien chloralosé**

*A la flèche : Addition au liquide de Tyrode de 0 cm<sup>3</sup> 4 d'extrait. Chute du tonus et arrêt réversible des mouvements.*

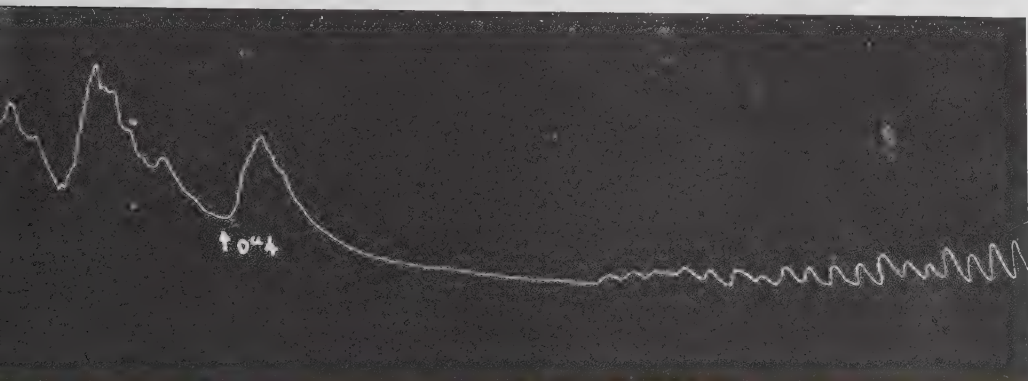


PLANCHE IX

**Action d'un extrait fluide (de type S repris par l'eau chaude)  
sur l'intestin isolé du chien chloralosé**

*A la flèche : Addition du liquide de Tyrode de 0 cm<sup>3</sup> 4 d'extrait. Tracé réduit de moitié.*

TABLEAU COMPARATIF ENTRE LES DOSAGES CHIMIQUES, LE DOSAGE  
SPECTRO-PHOTOMETRIQUE ET LE DOSAGE BIOLOGIQUE

| Extrait        | BERBERINE |                      | HYDRASTINE        |            |                   |              |                      |
|----------------|-----------|----------------------|-------------------|------------|-------------------|--------------|----------------------|
|                | Chimique  | Spectrophotométrique | Pharmacodynamique | Codex 1937 | Pondérale Wattiez | Volumétrique | Spectrophotométrique |
| A              | 2,22      | 2,40                 | 1,84              | 2,12       |                   |              | 2,34                 |
| B              | 2,95      | 4,90                 | 1,70              | 3,30       | 3,33              | 3,30         | 3,40                 |
| C              | 2,92      | 3                    | 2,80              | 3,20       | 3,26              | 3,22         | 3,29                 |
| V              | 4,4       | 5,04                 | 1,70              | 2,99       | 3,02              | 3,00         | 3,10                 |
| D              | 4,32      | 5,04                 | 3,10              | 3,10       | 3,18              | 3,12         | 3,24                 |
| G              | 5,68      | 6,00                 | 2,45              | 2,55       | 2,48              | 2,60         | 2,82                 |
| R              | 3,30      | 3,25                 | 2                 | 2,70       | 2,40              | 2,45         | 2,47                 |
| S <sup>1</sup> | 2,50      | 2,57                 | 2,08              | 2,08       | 1,98              | 2,00         | 2,03                 |
| S <sup>2</sup> | 2,47      | 2,57                 | 2,2               | 1,96       | 1,96              | 2,02         | 2,03                 |
| S <sup>3</sup> | 2,60      | 2,68                 |                   | 1,92       | 1,98              | 2,05         | 2,10                 |

ESSAIS PRATIQUES. — TABLEAU COMPARATIF DES RÉSULTATS

|                                      | A       | B       | C       | V       | D       | G       | R       | S <sup>1</sup> | S <sup>2</sup> | S <sup>3</sup> |
|--------------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------------|----------------|----------------|
| Densité à 15° .....                  | 984,3   | 999,2   | 992,7   | 1030,1  | 1010    | 972     | 1045,5  | 987            | 987,2          | 1000,1         |
| Extrait sec .....                    | 19,80   | 26,06   | 24,38   | 27,30   | 18,95   | 28,64   | 32,40   | 15,43          | 15,42          | 16,40          |
| Cendres .....                        | 0,90    | 1,52    | 0,72    | 1,42    | 0,79    | 0,55    | 1,52    | 0,67           | 0,63           | 0,76           |
| Degrés alcoolique ..                 | 50°     | 49° 8   | 49° 3   | 28° 4   | 43° 5   | 52° 6   | 34° 5   | 48° 3          | 48° 4          | 46° 5          |
| Indice d'eau .....                   | 1,9     | 1,2     | 1,4     | 1,5     | 1,3     | 2,3     | 1,5     | 2,5            | 2,4            | 2,2            |
| Indice diaphanométrique .....        | 68      | 100     | 72      | 441     | 227     | 99      | 441     | 39             | 40             | 36             |
| Indice de précipitation eau .....    | 1,50    | 1,65    | 1,05    | 2,15    | 1,45    | 0,85    | 2,25    | 0,55           | 0,70           | 0,75           |
| Indice de précipitation alcool ..... | 2,60    | 4,05    | 3,40    | 9,45    | 3,05    | 1,50    | 7,50    | 1,95           | 1,65           | 2,35           |
| pH .....                             | 5,7     | 5,6     | 5,8     | 5,6     | 5,8     | 5,6     | 56      | 5,6            | 6,0            | 5,8            |
| Viscosité 15° .....                  | 0,06510 | 0,05808 | 0,07960 | 0,08903 | 0,09210 | 0,05689 | 0,15821 | 0,06020        | 0,06097        | 0,06282        |
| ND 15° .....                         | 1,4040  | 1,3930  | 1,3985  | 1,4060  | 1,4070  | 1,3935  | 1,4000  | 1,3840         | 1,5840         | 1,3886         |
| Hydrastine .....                     | 2,34    | 3,40    | 3,29    | 3,10    | 3,24    | 2,82    | 2,47    | 2,03           | 2,03           | 2,10           |
| Berberine .....                      | 4,40    | 4,90    | 3,00    | 5,04    | 5,04    | 6,00    | 3,25    | 2,57           | 2,57           | 2,68           |



## CONCLUSION

---

Nos recherches nous ont permis de mettre en évidence l'existence dans l'hydrastis d'un glucoside et d'une substance aldéhydique libre dans l'extrait fluide.

De tous les essais que nous avons expérimentés sur l'extrait fluide d'hydrastis, il ressort, premièrement, que certaines déterminations physiques par trop précises son inapplicables. Il en est de même pour certains tests chimiques.

Parmi ces déterminations, nous rejettons donc :

La conductivité, l'indice de réfraction, la viscosité, les indices d'oxydabilité.

La tension superficielle peut varier de 29 à 30 dynes/cm à 20°.

L'examen de fluorescence en lumière de Wood nous démontre que l'extrait fluide d'hydrastis présente une fluorescence bleu-vert intense. Cette lumière de fluorescence présente un spectre s'étendant sensiblement de 420 m/μ à 550 m/μ, avec un maximum dans la région de 475 m/μ.

Le spectre de l'hydrastine est en tout point comparable. Il est inhibé lorsque la proportion de berbérine s'élève à 5 pour 1 d'hydrastine.

Ce spectre de fluorescence est donc un caractère typique de l'hydrastine et de cette préparation galénique de l'hydrastis, la proportion de berbérine n'atteignant jamais 5 pour 1.

Les indices d'eau et l'indice diaphanométrique tels que nous les avons définis, ne pourront nous renseigner que sur la pauvreté en extractif de nos préparations ; l'indice d'eau sera supérieur à 2 quand celui-ci sera notablement inférieur à 20 g. %. L'indice diaphanométrique étant alors inférieur à 40.

En revanche, les indices de précipitation eau-alcool, nous renseignent sur la faiblesse du degré alcoolique. A degré faible, « indice alcoolique » fort.

L'importance du degré alcoolique de la préparation terminée est indéniable.

L'hydrastine existant surtout à l'état de sels solubles dans l'eau ou l'alcool faible, certaines préparations peuvent être effectuées,

non plus à l'aide de l'alcool à 70° prescrit, mais avec des alcools de titre inférieur. Le degré alcoolique étant tout juste suffisant pour assurer la conservation de la préparation.

Ces alcools faibles jouissent de propriétés solubilisantes fortes vis-à-vis de la drogue et l'extrait sec augmente.

Ces préparations paraissent, à première vue, plus riches et de fabrication plus correcte. Il n'en est rien. A leur actif, on note, au contraire, une incompatibilité plus grande à entrer dans des mélanges complexes par suite de la facilité et de l'abondance de la précipitation.

Il faudrait donc admettre un titre alcoolique de 50° pour la préparation galénique.

L'extrait sec est cependant intéressant à connaître ; normalement, pour une préparation du titre requis, cet extrait varie entre 19 et 26 %. Pour sa détermination, comme d'ailleurs pour la détermination de l'extrait sec des préparations galéniques en général, il serait intéressant que notre pharmacopée adoptât un « *modus operandi* » standard.

La densité est liée, d'une part à la concentration en extrait, à la température de détermination, mais, et surtout, au degré alcoolique de la préparation. Nous voyons la densité augmenter considérablement avec la baisse du titre alcoolique.

Nous avons indiqué une règle approximative permettant de déterminer la densité à une température quelconque et de calculer ensuite celle-ci pour une température de + 15°.

Normalement, la densité d'un extrait fluide Codex devrait être comprise entre 980 et 1.000 à + 15°.

L'acidité jouit également d'un pouvoir important.

Comme nous l'avons déjà énoncé, Dohme et Engelhart (10) ont démontré que dans le rhizome d'hydrastis 20 % environ de l'hydrastine existe à l'état de base et 80 % à l'état de sels organiques solubles.

La drogue a normalement un caractère acide. Le pH de la préparation galénique étant de 5,6 à 5,8. Cet équilibre n'est pas suffisant et ces auteurs préconisaient déjà d'ajouter une certaine quantité d'acide acétique à l'alcool de macération pour solubiliser l'hydrastine-base. Cette manière de voir a été adoptée par la Pharmacopée hollandaise.

Richard Schreiber (5) démontre que, en opérant comparative-ment sur un même échantillon d'hydrastis, selon diverses tech-

niques officielles, c'est la méthode hollandaise qui permet d'extraire le maximum d'hydrastine (2,51 % sur 2,78 % contre 2,30 % à 2,40 %).

L'influence de cette acidité, nous l'avons démontrée en préparant des extraits à l'aide de solutions aqueuses tamponnées, et nous signalons encore l'intérêt de cette nouvelle forme d'extrait, en particulier celui à pH 5 qui se caractérise ainsi : extrait sec, pulvérulent soluble dans l'eau, de bonne conservation et d'activité biologique contrôlée.

Il est à remarquer que la Pharmacopée U. R. S. S. ajoute de l'acide tartrique à l'extrait terminé, cela dans le but d'empêcher la précipitation des alcaloïdes.

Y a-t-il intérêt à extraire le maximum d'hydrastine ?

Oui, évidemment, quant on considère le côté galénique pur de la question. Mais par l'expérimentation pharmacodynamique et par nos titrages biologiques, nous avons prouvé que l'action est fonction de la concentration de la préparation en cet alcaloïde.

Donc, en déclarant que l'extrait fluide d'hydrastis doit avoir une teneur minimum de 2,50 % en hydrastine, le Codex nous met en possession d'un produit d'activité indéniable, mais variable, et nous pensons que, comme le font déjà certains Etats, il serait intéressant d'adopter une teneur fixe pour notre formulaire officiel.

Pour concilier ces divers points de vue, nous pourrions proposer un extrait liquide d'hydrastis titré qui s'obtiendrait par lixiviation, mais après une macération préalable de la poudre dans l'alcool à 70°, acétique ou tartrique, à 5 pour mille. Les huit premiers dixièmes de la colature seraient recueillis et mis à part. L'épuisement se poursuivrait à l'aide d'alcool à 70°, comme dans les règles de la lixiviation normale. Cette deuxième colature serait distillée jusqu'à extrait ferme et celui-ci solubilisé dans la première extraction.

On déterminerait alors le titre alcoolique de la préparation, l'extrait sec et la teneur en hydrastine. Puis, à l'aide d'eau ou d'alcool, on ramènerait cet extrait jusqu'au titre en hydrastine légal et à 50° d'alcool. Après repos, on filtrerait.

Il est évident qu'une telle préparation ne pourrait plus se prévaloir du titre d'extrait fluide, mais aurait des avantages certains.

Nous avons, de plus, dans ce travail, fait l'étude critique de divers procédés de dosage de l'hydrastine. Nous pensons pouvoir conclure que la méthode volumétrique que nous avons suivie et

qui est une modification des méthodes suédoise et allemande, présente des avantages de précision et de rapidité.

Mais la méthode qui, sans contestation possible, permet d'obtenir, avec le maximum de rapidité, avec des résultats constants et comparables à ceux fournis par les diverses méthodes chimiques, est la méthode spectro-photométrique en ultra-violet.

Par une simple dilution d'une quantité infime d'extrait et par la détermination de deux points d'absorption, l'un pour  $3.450 \text{ A}^\circ$ , l'autre pour  $3.050 \text{ A}^\circ$ , cette méthode permet d'obtenir en quelques instants, non seulement la quantité d'hydrastine contenue dans la préparation, mais également la quantité de berbérine.

De plus, par la détermination entre  $4.000 \text{ A}^\circ$  et  $2.500 \text{ A}^\circ$ , on obtient une courbe d'absorption dont l'allure est une caractéristique de l'extrait fluide d'hydrastis. L'inconvénient de cette méthode réside dans le prix de l'appareillage.

Enfin, pour terminer, l'expérimentation biologique a permis de démontrer la synergie d'action résultant de l'association berbérine-hydrastine, le mordantage dû à la berbérine. Ce qui prouve, une fois de plus, l'intérêt des préparations galéniques, que le médicament chimique ne peut pas prétendre à remplacer toujours.

---

LU ET APPROUVÉ :  
*Le Président du Jury,*  
ASTRUC.

VU ET APPROUVÉ :  
Montpellier, le 13 Février 1941.  
*Le Doyen,*  
ASTRUC.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :  
Montpellier, le 13 Février 1941.  
*Le Recteur : PARISEL.*

## BIBLIOGRAPHIE

---

1. GORIS et WALLART. — *L'hydrastis canadensis*. *B.S.P.*, p. 624, 1906.
2. DURAND. — Voir P. Lebeau et G. Courtois. — *Traité de Pharmacie chimique*, t. II, fasc. II, p. 1487.
3. PERRINS. — *Pharm. Journ.*, t. III, pp. 546, 657, 1862.
4. SCHMIDT. — *Arch. Pharm.*, t. 226, p. 330, 1888 et t. 232, p. 136, 1894.
5. RICHARD-SCHREIBER. — Ueber Fluidextrakte. *Apoth. Zeitung*, p. 600, 1912.
6. FREUND. — *Ber.*, t. 20, p. 89, 1887.
7. SCHMIDT. — *Arch. Pharm.*, t. 228, pp. 217, 600, 1890.
8. BELLONI. — Le rhizome d'hydrastis canadensis. *Bolletino chim. Farm Milan*, t. 58, n° 5, p. 81, 1919.
9. MARKWELL. — Alkaloidal content of hydrastis. *Chemist and Druggist*, n° 126, p. 90, 1937.
10. DOHME et ENGELHART. — *Pharm. Rundschau*, New-York, S. 325, 1895.
11. SMEETS. — Ueber fluidextrakte. *Apoth. Zeitung*, p. 600, 1912.
12. HÉRAIL. — *Traité de matière médicale*, librairie Baillière, Paris.
13. PLANCHON. — *Précis de matière médicale*, 4<sup>me</sup> édition, librairie Maloine, Paris, p. 482.
14. TCHIRSCH. — *Pharmacognosie*, t. III, Partie spéciale, 2, p. 660.
15. LEBEAU et COURTOIS. — *Pharmacie chimique*, t. II, fasc. I, p. 910.
16. DENIGES. — *Précis de chimie analytique*, t. II, p. 19.
17. WATTIEZ et STERNON. — *Eléments de chimie végétale*, Masson et C<sup>ie</sup> édité., Paris, 1935.
18. BERTRAND. — Voir Deniges (16), t. I, p. 19.

19. DEFACQZ (E.). — *C. R.*, 123, 309.
20. WURTZ. — *Dictionnaire de chimie*, t. II, Supplément H., p. 567.
21. CLAUDE et BLANCHETIÈRE. — *J. Physiol. et Pathol. général.*, pp. 87-101, 1907.
22. WARIN. — Etude comparative sur la préparation de quelques extraits fluides. *Thèse Doct. en Pharmacie*, Paris, 1901.
23. ASTRUC. — *Traité de Pharmacie galénique*, Maloine, édit., Paris, 1934.
24. RAGOUCY. — Sur quelques caractéristiques des extraits fluides parties égales.
25. ZIEGLER. — *Apoth. Zeit.*, t. 26, p. 868, 1911.
26. HOGER. — *Apoth. Zeit.*, t. 27, p. 315, 1912.
27. DULIÈRE (W.). — Préparation, caractères et dosages de l'extrait fluide d'hydrastis. *Amer. journ. Ranvez*, XIV, p. 49, 1908.
28. BUTTIN. — Les extraits fluides officinaux. *Journal Suisse de Ch. et Ph.*, Lausanne XL, n° 26, p. 295, 1902.
29. BELLONI. — *Bolletino Ch. et Farm. Milan*, t. 61, n° 1, p. 3, 1922.
30. LINCKE. — Contribution au chapitre des extraits fluides. *Apoth. Zeit.*, II, pp. 522, 529, 543, 1910.
31. KNAPP. — Extraits secs et poids spécifiques de quelques teintures et extraits fluides de la 4<sup>me</sup> Pharmacopée Suisse. *Journal Suisse de Ch. et Pharm.*, Zurich, 50, n° 45, p. 676, 1912.
32. SERGER (H.). — Détermination indirecte de l'extrait sec et de la teneur en alcool d'une solution. *Pharm. Zentral*, p. 855, 1918.
33. — *Pharm. Zentral*, n° 31, p. 855, 1912.
34. LINCKE. — *Apoth. Zeitung*, p. 869, 1911 et *Apoth. Zeitung*, p. 321, 1912.
35. DULIÈRE (W.). — Voir référence n° 27.
36. SCHREIBER (R.). — Voir référence n° 5.
37. MARTINI et NOURRISSON. — Méthode chimique de dosage de l'alcool. *Journ. de Pharm. Fr.*, p. 235, 1925.
38. NICLOUX. — *Bull. de la Soc. Chim. Fr.*, t. VI, p. 97, et *Journ. Pharm. et de Chim.*, t. I, p. 426, 1897.
39. FABRE et BARD. — *Journal de Pharmacie et de Chimie*, p. 5, janvier 1934.

40. JAULMES. — Recherche sur l'acidité volatile des vins. *Thèse de Pharm.*, Montpellier, 1931.
41. NICLOUX. — L'alcool dans le sang putréfié et chez le cadavre. *Bull. Soc. Chim. Biol.*
42. DOMERGUE. — Les teintures alcooliques de la pharmacopée française. *Thèse de Pharm. Sup.*, Paris, 1893.
43. RIMATTEI. — Contribution à l'étude théorique et expérimentale des méthodes de dosage optique des solutions troubles ou colorées. *Thèse de Pharm. Sup.*, Paris, 1929.
44. LEMONDE. — Dispositif pour mesures de tensions superficielles par la méthode d'arrachement. *Journ. de Phys. Sect. de Lyon*, 9 mars 1929.
45. LEMONDE et CHEVALLIER. — Etude des tensions superficielles entre liquides. *Journ. de Phys. Sect. de Lyon*, 23 juin 1929.
46. FABRE. — La fluorescence, ses applications à la chimie, à la pharmacie et à la biologie. *Bull. Pharm. Bordeaux*, n° 63, p. 178, 1923.
47. DANCWORTH et PFEAU. — *Deutsch. Pharmaz.*, n° 263, p. 68, 1927.
48. BAYLE et FABRE. — Etude de la fluorescence des alcaloïdes du groupe de l'isoquinoléine et de la tétraisoquinoléine, papavérine et narcotine, hydrastine et leurs produits de dédoublement. *C. R.* 178, p. 2, 181, 1924.
49. ANDANT. — Identification des produits pharmaceutiques par leurs spectres d'absorption et de fluorescence. *Thèse doct. en Pharm.*, Paris 1929.
50. BERHEIM et GUYOT. — *Traité d'analyses par les rayons ultra-violets filtrés*. Maloine, édit., Paris 1932.
51. GOLOUSKO. — Die bedeutung der fluoreszenzerscheinungen für spuren untersuchungen in der gerichtlichen medezin. *Diss. Zurich*, 1916.
52. PEYROT. — Le facteur de dépolariation de la lumière diffusée par les liquides, son application à la mesure de traces de fluorescence. *Thèse Pharm. Sup.*, Montpellier 1934.
53. RIMATTEI. — Recherches sur la conductivité électrique de quelques sérums thérapeutiques et des sérums tuberculeux dans les différentes formes de la tuberculose pulmonaire. *Thèse de Doctorat en Médecine*, Marseille 1931.
54. MORVILLEZ et MEESEMAEKER. — Nouveau procédé de dosage de l'allylsé-névol et étude comparée des divers procédés usités. *Journ. de Pharm. et Chim.*, série 7, t. XXX, p. 236, 1931.

55. MORVILLEZ et LECLERC. — La fixation de l'iode par les teintures officielles envisagée comme procédé de caractérisation et comme critérium de leur valeur. *Journ. Pharm. et Chim.*, série 8, t. XV, p. 273, 1932.
56. DANJOU. — Contribution à l'étude des extraits fluides du Codex. *Thèse Docto. en Pharm.*, Lille 1933.
57. CORDEBARD. — Vérification de la pureté et titrage des composés organiques complètement oxydés par le mélange sulfo-chromique. *Thèse de Doct. en Pharm.*, Nancy 1921.
58. CANTON. — *Thèse de Doct. en Pharm.*, Lille 1924.
59. POLONOWSKY et LESPAGNOL. — Sur le microdosage du lactose dans le lait. *Bul. Soc. Chim. Biol.*, t. IX, p. 1110, 1927.
60. LESPAGNOL. — *Thèse de Pharm. Sup.*, Lille 1932.
61. RONA. — *Pratikum der Physiologischen chemie. Berlin Julius Springer*, 1931.
62. WASIKY et JOACHIMOWITZ. — Teneur en hydrastine et en berbérine de l'hydrastis canadensis cultivé en Autriche (Karnenburg) et sur la détermination quantitative de la berbérine. *Arch. der Pharm.*, CCLV, pp. 497-587, janvier 1918 et *J. P. C.*, série 22, II, p. 146, 1920.
63. WATTIEZ. — L'acide silico-tungstique appliqué au dosage de l'hydrastine dans l'hydrastis canadensis et les préparations galéniques qui en dérivent. *Journ. de Pharm. de Belgique*, II, p. 817, 1920.
64. GORDIN. — Zwei neue methoden für die quantitative bestimmung des berberins. *Arch. der Pharm. Berlin*, CCXI, pp. 638-645, 1902.
65. CHEVALLIER. — Sur la spectrophotométrie dans l'ultra-violet et son application à l'analyse biologique. *Bull. Soc. Chimie Biologique*, XVII, n° 4, avril 1933.
66. CHEVALLIER et DUBOULOZ. — *C. R. Acad. des Sciences*, t. 194, p. 174 452, 1932.
67. — *Bull. Soc. de Chimie Biologique*, t. 14, p. 1076, 1932.
68. — *Journ. Physiol. et Pathol. Gén.*, t. 33, n° 3, 1935.
69. CHEVALLIER et CHABRE. — Le dosage de la vitamine A dans les huiles par la méthode spectrophotométrique. *Bull. Soc. Chimie Biologique*, t. XVI, n° 9, nov. 1934.

70. CHABRE. — Etudes sur les huiles de foie de morue, leur teneur en vitamines A et D. *Thèse Doct. en Pharm.*, Marseille 1936.
71. STEINER. — Spectre ultra-violet de la narcotine, hydrastine et hydrocotarnine. *C. R.*, p. 244, 1923.
72. MERCIER. — *C. R. S. B.*, 1936.
73. LEVY et GAUDIN. — *Paris Médical*, t. 19, p. 583, 1929.
74. LEVY. — *Essai et dosage biologique de substances médicamenteuses*. Masson, Paris, 1936.
75. MERCIER et VIGNOLL. — *C. R. S. B.*, 1936.



# Table des Matières

---

|                                                  |    |
|--------------------------------------------------|----|
| INTRODUCTION .....                               | 7  |
| ETUDE DE LA COMPOSITION D'UN EXTRAIT FLUIDE..... | 11 |

## ESSAIS PHYSIQUES

|                                              |    |
|----------------------------------------------|----|
| POIDS SPÉCIFIQUE.....                        | 29 |
| Extrait sec .....                            | 31 |
| Etude des cendres .....                      | 35 |
| Degré alcoolique .....                       | 39 |
| Indice d'eau .....                           | 48 |
| Indices de précipitation eau et alcool ..... | 52 |
| Tension superficielle .....                  | 54 |
| Viscosité .....                              | 54 |
| Fluorescence en lumière de Wood .....        | 58 |
| Indice de réfraction .....                   | 61 |
| Conductivité .....                           | 61 |

## ESSAIS CHIMIQUES

|                                                                                                            |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| DÉTERMINATION DE L'AZOTE KJEDHALLISABLE .....                                                              | 65  |
| Indices d'oxydabilité .....                                                                                | 65  |
| Acidité .....                                                                                              | 68  |
| Préparation d'extraits tamponnés .....                                                                     | 69  |
| DOSAGE DE L'HYDRASTINE ET DE LA BERBÉRINE .....                                                            | 75  |
| ETUDE SPECTROGRAPHIQUE DE L'EXTRAIT FLUIDE D'HYDRASTIS : DOSAGE<br>DE L'HYDRASTINE ET DE LA BERBÉRINE..... | 89  |
| DOSAGE BIOLOGIQUE DE L'HYDRASTINE .....                                                                    | 107 |
| CONCLUSION .....                                                                                           | 121 |
| BIBLIOGRAPHIE .....                                                                                        | 125 |

---





